MEMÓRIAS

DO

INSTITUTO BUTANTAN

1953

Vol. 25 N.º 1



São Paulo, Brasil

Caixa Postal 65 PEDE
EXCHII

 $_{
m cm}$ $_{
m 1}$ $_{
m 2}$ $_{
m 3}$ $_{
m 4}$ $_{
m 5}$ $_{
m 6}$ $_{
m 7}$ SciELO $_{
m 11}$ $_{
m 12}$ $_{
m 13}$ $_{
m 14}$ $_{
m 15}$ $_{
m 16}$ $_{
m 17}$





MEMÓRIAS

DO -

INSTITUTO BUTANTAN

1953

Vol. 25



São Paulo, Brasil Caixa Postal 65 As "MEMÓRIAS DO INSTITUTO BUTANTAN" são destinadas à publicação de trabalhos realizados no Instituto ou com a sua contribuição. Os trabalhos são dados à publicidade logo após a entrega e reunidos anualmente num volume.

Serão fornecidas, a pedido, separatas dos trabalhos publicados nas "Memórias", solicitando-se nesse caso o obséquio de enviar outras separatas, em permuta, para a Biblioteca do Instituto.

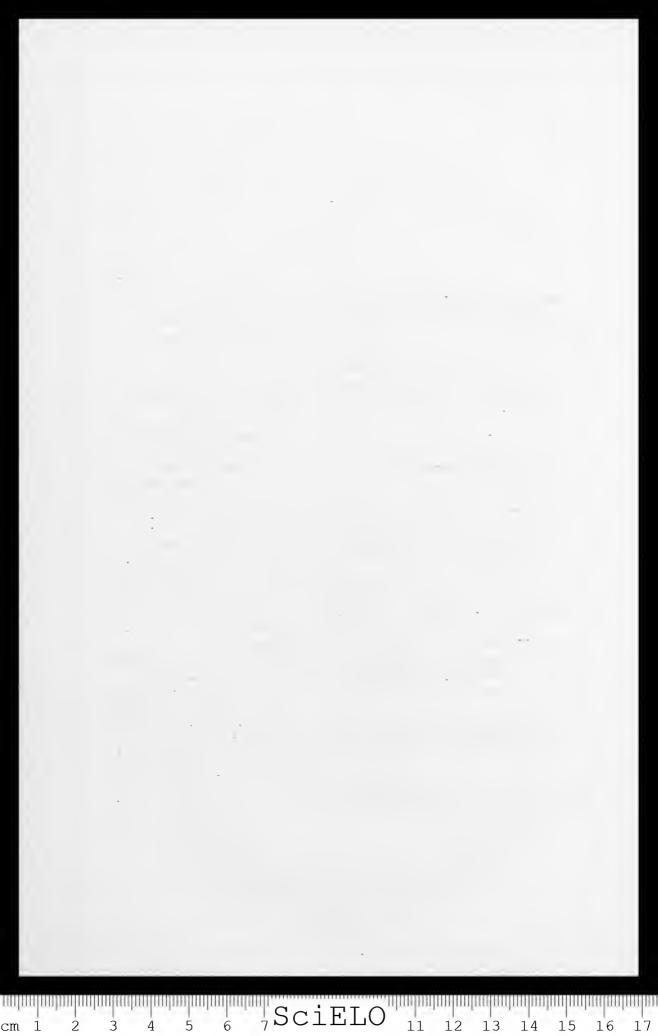
Toda a correspondência editorial deve ser dirigida ao:

INSTITUTO BUTANTAN Biblioteea Caixa Postal, 65 S. Paulo, BRASIL.

PEDE-SE PERMUTA EXCHANGE DESIRED.

INDICE

		Pág.
1.	JANZSKY, B. & HELLE, J. — Decreased clotting time of rabbit blood induced by snake venom injection.	1
2.	RU1Z, José M. — Preparo do antígeno para intradermo-reação na esquis- tocomose.	5
3.	HOGE, A. R. — A new Bothrops from Brasil. Bothrops brazili, sp. nov.	15
4.	RUIZ, José M. — Esquistosomose experimental. 3. Cuniculus paeca paeca e Grison furax, novos animais receptiveis à infestação pelo Schistosoma mansoni.	23
5.	HOGE, A. R. — A new genus and species of Boinae from Brazil. Xenoboa cropanii, gen. nov., sp. nov.	27
6.	KAISER, E. — The enzymatic activity of spider venom. On the influence of sulfonated polysaccharides on the proteolytic and hyaluronic acid splitting activity of spider venom.	35
7.	ROSENFELD, G. & HOEHNE, LAELIA. — Studies on comparative hematology. 1. Hematologic data of Myrmecophaga t. tridactyla L., 1758 (Tamanduá-bandeira) and oi Tamandua t. tetradactyla L., 1758 (Tamanduá-mirim).	41
8.	BCCHERL, W. — Escorpiões e escorpionismo no Brasil. 1. Manutenção de escorpiões em viveiros e extração do veneno.	53
9.	BUCHERL, W. — Escorpiões e escorpionismo. II. Atividade das peçonhas de Tityus scrrulatus e T. bahiensis sõbre camundongos	83
	BUCHERL, Wolfgang — Quilópodos, Aranhas e Escorpiões enviados ao Instituto Butantan para determinação.	109
11.	BUCHERL, Wolfgang — Novo Processo de obtenção de veneno seco, puro, de Phoneutria nigriventer (Keyserling, 1891) e titulação da LD ₅₀ em camundongos.	153
12.	RUIZ. JOSÉ M. & CARVALHO, JOSÉ M. — Australorbis immunis (Lutz, 1918) hospedeiro intermediário de Schistosoma mansoni na cidade de Santos, Estado de S. Paulo.	175
RO:	SENFELD, G.; RZEPPA, H.; NAHAS, L. C. SCHENBERG, S. — Hemolysis and blood concentration of sulfanes "in vivo".	.,,
Erra	ata das memórias do Instituto Butantan 24 (2) : 69-76, 1952,	177



DETREASED CLOTTING TIME OF RABBIT BLOOD INDUCED BY SNAKE VENOM INJECTION (*)

B. JANZSKY (**) & J. HELLE (***)

(Department of Hematology, Instituto Butantan, São Paulo, Brazil)

The blood clotting action of different snake venoms, especially of those of the Bothrops genus, has been well established, but whether injections of diluted solutions of these venoms have any effect on the coagulability of the blood is still a matter of discussion. The increased coagulability of the blood after injections of snake venom solutions has been reported by different authors and has also been recommended as a treatment in hemorrhagic conditions, Stockton and Franklin (1), Peck and Sobotka (2), Hanut (3), Klobusitzky and König (4). Others authors, Kauer, Bird and Reznikoff (5), more recently, deny the increased coagulability of the blood after injections of venom solutions, and also derry the possible usefulness of snake venom products administered parenterally in hemorrhagic conditions. We thought it interesting therefore to reinvestigate this problem by applying the silicone technique, as described by Quick (6) which makes it possible to observe considerably prolonged normal clotting times. The increased coagulability of the blood can be more easily demonstrated by shortening these prolonged clotting times than with the ordinary Lee and White method.

We found the normal blood clotting time of rabbits to be 37.2 minutes, this being the mean of 30 determinations. Then we injected rabbits with increasing doses of *Bothrops* venom (a saline solution containing 0.3% phenol and 0.75 µg/cc *Bothrops atrox* venom, which was previously heated and precipitated at pH 5.0). We found that doses between 12 µg and 240 µg decreas-

^(*) This study was supported by a contract with the Conselho Nacional de Pesquisas.

^(**) Formely of Instituto Pinheiros, S. Paulo, Brazil.

^(***) McGill University, Montreal, Canadá.

Received for publication on February 20, 1953.

ed the clotting time significantly, as shown in Table I. Doses higher than $240~\mu g$, while further shortening clotting times, irequently killed the animals although the toxicity of the heated and precipitated venom is considerably decreased.

Influence of increased doses of snake venom on clotting time of rabbits, 15 minutes after injection.

TABLE I

N.º of rabbits	Dose inj. in µg'kg	Congulation time (mean in minutes)	Standard deviation
30	-	37.2	5.2
5	1	37.2	6.1
10	4	35.6	2.8
15	15	24.5	2.7
10	(0)	20.1	2.8
5	240	18.0	2.6

To see how long the decreased clotting times could be observed rabbits were injected, then periodically bled. We found that 5 minutes after the injection of 60 µg a significant decrease in clotting time could be observed and that after 5 hours the clotting time returned to normal as shown in Table II. Rabbits injected with an effective dose showed always normal clotting times after 24 hours.

Table II

Influence of time on increased coagulability of rabbit blood. Dose injected, 60 µg/kg.

N.º of rabbits	Time after injection minutes	Cagulation time (mean in minutes)	Standard deviation
7	5	20.4	3.7
10	15	20.1	2.8
5	30	21.4	2.6
5	60	22.2	2.3
7	120	22.1	2.8
4	300	39.5	3.5

We also injected rabbits with saline containing the same quantity of phenol as the venom solution, to see whether a simple injection i.e. the trauma could, by itself, cause a decreased clotting time. The mean clotting time taken from 12 animals treated in this way, was 39.6 minutes, showing that these injections had no action whatsoever.

The significantly shorter clotting times observed in more than 250 determinations of 130 rabbits after the injections of the heated and precipitated snake venom solution prove the influence of these venoms on the coagulability of rabbit blood. The positive phase lasted for at least 2 hours. After 5 and after 24 hours the clotting times were normal again.

The mechanism by which snake venous decreased the clotting time of the blood of rabbits is not clear yet. The power of these venous to activate prothrombin, or their thrombinomimetic action in vitro, cannot be the explanation, as injections of dilute thrombin or thromboplastin solutions did not result in the shortening of the normal blood clotting time. On the contrary, they resulted, confirming Houssay's findings (7) with snake venous, in the slow precipitation of fibrin and the decreased or complete incoagulability of the blood: Jürgens and Studer (8), Gerendás and Csapó (9). Some other mechanism must therefore be involved, perhaps as suggested by Mauro (10) and Breda, Bernardi, and Sala (11), the thromboplastic content is increased by the action of snake venous. Nevertheless the mechanism of action of snake venous on blood clotting still remains a matter of investigation.

SUMMARY

Snake venom (Bothrops atrox) injected intravenously in rabbit in dosis between 12 and 240 µg/k produced a shortening of the clotting time measured in siliconized tubes. The mechanism of such action remains a matter of investigation.

RESUMO

Veneno botrópico (Bothrofs atrox) injetado na veia de coelhos em doses de 12 a 240 ug/k, produzem um nitido encurtamento do tempo de coagulação, determinado em tubos siliconizados. O mecanismo de ação desse fenômeno continua sendo um tema de investigação.

BIBLIOGRAPHY

- Strickton, M. E. & Franklin, G. C. II. Antivenin therapeutic in purpura, J. Amer. Med. Assn. 96: 677, 1931.
- Perk, S. M. & Sobotka, H. H. Production of a refractory state as concerne the Shwartzman phenomenon by the injections of venom of the moccasin snake (Ancistrodon fiscivorus), J. Exper. Med. 54: 407, 1931.

DECREASED CLOTTING TIME OF RABBIT BLOOD INDUCED BY SNAKE VENOM INJECTION

4

- Hanut, C. J. Recherches préliminaires sur l'emploi des solutions dilués de venin de Bothrops atrox comme hémostatiques, Compt. Renà. Soc. Biol.. 123: 1232, 1936.
- 4. Kiobuzitsky. D. & König, P. Biochemische Studies über die Gifte der Schlangengattung Bothrops; die Wirkung der gerinnugsiordernden Substanz in vivo, Arch. Exper. Path. u. Pharmakol. 172: 577, 1936.
- Kauer, G. L.; Bird, R. M. & Reznikoff, P. The clotting action of fer-de-lanee venom, Amer, J. Med. Sc. 205: 16, 1936.
- 6. Quick, A. J. The Physiology and Pathology of Hemostasis, Philadelphia, Lea & Feabiger, 1951, pp. 104.
- Houssay, B. A. & Sordelli, A. Estudios sobre los venenos de serpientes. V. Influencia de los venenos de serpientes sobre la eoagulación de la sangre, Rev. Inst. Bact. Malbran 1: 485, 1918.
- Jurgens, R. & Studer, A. Zur Wirvung des Thrombins, Ilelvet. Physiol. et Pharmacol. Acta 6: 130, 1948.
- Gereudás, M. & Csapó, A. Intravenose Thrombinwirkung, Arch. Biol. Hung. 18: 181, 1948.
- Mauro, C. Sulla azione emocoagulante del veleno del Bothrofs jararaca (contributo sperimentale e clinico). Gior. Ital. Chir. 5: 488, 1949.
- 11. Breda, R.; Bernardi, R. & Sala, F. Richerche clinico-sperimentale sull'azione coagulante dei veleno di Bothrofs jararaca, Gior. Clin. Med. 32: 1, 1951.

PREPARO DO ANTÍGENO PARA INTRADERMO-REAÇÃO NA ESQUISTOSSOMOSE

JOSÉ M. RUIZ

(Secção de Parasitologia, Institute Butantan, São Paulo, Brasil)

No estudo do problema tão atual da esquistossomose há muitos aspectos a abordar. Nenhum deles foi até a presente data resolvido plena e satisfatóriamente. Sem dúvida dos mais importantes é o que se refere ao diagnóstico. Podemos afirmar que na esquistossomose, método algum de diagnóstico permite uma segurança de 100%, não por culpa do método em si, mas por fatores outros independentes do próprio método diagnóstico.

A intradermo-reação constitúi atualmente o método biológico mais seguro e prático para o diagnôstico de esquistossomose. Como tôdas as reações biológicas está sugeita, é claro, à variação da sensibilidade individual o que lhe diminúi em parte o valor. Mesmo assim, dentro das reações cutâneas é uma das mais sensiveis e específicas.

O preparo de bons antígenos para essa prova será sem dúvida o primeiro passo do qual dependerão os resultados.

As discordâncias observadas entre diversos autores na interpretação das reações intradérmicas, devem ser antes atribuidas à diversidade das condições de trabalho e do antigeno empregado do que à excelência do método.

Três tipos de antígenos foram empregados em tais provas: de hepatopâncreas de moluscos infestados, cercárias de *Schistosoma* e *Schistosoma* adultos. Não nos referimos aqui aos antígenos heterólogos que não conseguiram se introduzir na prática.

O antigeno preparado a partir de hepatopâncreas de moluscos infestados com cercárias de *Schistosoma*, foi introduzido por Fairley e Williams (4), primeiros autores a praticar a intradermo-reação no diagnóstico da esquistossomose. A partir de então, numerosos pesquisadores têm publicado trabalhos valiosos

Recebido para publicação em Abril de 1953.

sóbre o asunto, tendo sido estudados isolada ou comparadamente antígenos de vermes adultos e de cercárias. Desde logo se verificou que o antígeno de hepatopâncreas não se mostra tão eficaz quanto os demais.

O antígeno de vermes adultos é o mais usado. Com resultados práticos comparáveis ao de cercárias, é de obtenção mais fácil e mais segura, embora dependa da inoculação prévia de animais de laboratório. Esse trabalho entretanto é compensado pela segurança da identificação específica, pelo maior rendimento e pela pureza do antígeno obtido.

A técnica mais generalizada para a obtenção do antígeno é, em linhas gerais, a seguinte:

Obter vermes adultos de animais infestados há cerca de dois meses. Coletar os vermes em solução fisiológica, lavá-los diversas vêzes com novas porções dessa solução e por fim com água distilada. Esgotar a água e colocar o material no refrigerador. Dessecar o material no vácuo, em presença de ácido sulfúrico ou carbonato de cálcio. Pulverizar os vermes secos. Submeter o pó a uma extração aquosa, usando como líquido extrator uma solução de Çoca mertiolatada a 1:5.000 ou 1:10.000 ou fenolada a 0,4%. A extração é feita no refrigerador, durante 2 ou 3 dias ou mais, agitando-se o líquido diáriamente. Após centrifugação e filtração obtem-se uma solução estoque que será diluida convenientemente para uso.

Há três pontos essenciais na consecução do antígeno, que ainda não estão perfeitamente padronizados: 1) obtenção de um antígeno purificado; 2) condições da extração relativas ao tempo e à temperatura e 3) proporção de líquido a empregar para a extração total.

Foge à finalidade da presente nota a discussão desses vários pontos em seus pormenores.

A proporção de liquido usado na extração é um ponto que diverge com os autores. Oliver Gonzalez e Pratt (7), Coutinho (2) e outros fazem a extração na proporção de 1,0 g de pó para 100 ml de líquido. Meyer e Pifano (5,6), Vianna Martins (9) fazem uma extração arbitrária, isto é, na proporção de mais ou menos 100 vermes, de ambos os sexos, por ml de liquido.

Seria de desejar a padronização dêsse detalhe técnico para avaliar comparativamente o valor dos antigenos. A pesagem de grande número de vermes não oferece a menor dificuldade. Pequenas amostras de pó constituem sem dúvida um problema, pois nem sempre os laboratórios de parasitologia são aparelhados com balanças de alta precisão. Pensamos resolver esse obstâculo, determinando o pêso médio de um *Schistosoma* e estabelecendo uma fórmula que indique a quantidade de liquido a ser usada. Obter-se-á assim um antigeno estoque sempre na mesma proporção. É evidente que existirá uma

causa de êrro inversamente proporcional ao número de vermes. Esse erro entretanto é desprezível e talvez menor que o das pesagens isoladas.

Parece existir ligeira variação de talhe nos *Schistosoma mansomi* de acôrdo com o animal utilizado na experimentação. Esse pormenor está sendo estudado atualmente em nosso laboratório.

O animal que melhor se presta para a finalidade em apreço é, a nosso ver, a cobaia. Os *Schistosoma* de desenvolvimento normal obtidos nesse animal têm, depois de perfeitamente sêcos, o seguinte pêso médio: machos 0,000082 g ou 82 mcg., fêmeas 0,000023 g ou 23 mcg. Para obter uma sol. estoque a 1% poder-se-á aplicar a seguinte fórmula:

$$\frac{82 \text{ M} + 23 \text{ F}}{10,000} = \text{N}$$

sendo N a quantidade de liquido em mí a utilizar, 82 e 23 os pesos médios em meg des exemplares adultos machos M, e fêmeas F, respectivamente. Em nossa rotina achamos mais interessante fazer a extração a 1:200. Neste caso divide-se o denominador da fórmula por dois.

Nova técnica para a obtenção do antigeno.

Baseados nos princípios: 1) que a substância responsável pelas reações atópicas está contida na fração polissacaride; 2) que o álcool absoluto e o éter sulfúrico não dissolvem e não alteram a referida substância e que 3) extracm ou eliminam as frações lipóide e protéica nas condições expostas a seguir, idealizamos uma nova técnica para a obtenção do antígeno para intradermo-reação na esquistossomose que apresentasse um alto grau de pureza sendo ao mesmo tempo de fácil consecução. Como os resultados fossem bons passamos a divulgá-la.

A 20 de janeiro do presente ano foi apresentada e discutida na reunião mensal da Sociedade de Biologia de São Paulo.

Os antígenos para intradermo-reação como são preparados atualmente constituem um extrato aquoso total com certa quantidade de proteinas e de lipóides, ou um complexo lipóide de constituição coloidal. Tratando previamente o material a ser extraído pelo álcool absoluto e éter sulfúrico, proteinas e lipóides são eliminados de maneira mais ou menos completa. Obtem-se assim um antigeno grandemente purificado.

A seguinte técnica nos forneceu ótimos resultados:

1 — Recolher os vermes adultos obtidos por infestação experimental de cobaias, por meio de perfusão do figado e mesentério.

- 8
- 2 Coletar os vermes em solução fisiológica numa pequena placa de Petri.
- 3 Passar os vermes para um Becker de 20 a 30 ml de capacidade, contendo 15 a 20 ml de uma mistura de álcool absoluto e éter sulfúrico em partes iguais. Contar ao mesmo tempo o número de vermes de ambos os sexos. Usar álcool e éter de boa qualidade. Deixar o material coberto à temperatura ambiente.
- 4 Após 4 a 24 horas, esgotar o álcool-êter, emborcando cuidadosamente o frasco que deve permanecer, cêrca de um minuto, invertido sôbre um papel de filtro (Esse líquido evaporado deixa um pequeno resíduo que dá forte reação pelo ácido ósmico manifestada por um enegrecimento acentuado).
- 5 Dessecar os vermes no vácuo durante meia hora. Os vermes ficam soltos, muito alvos e a secagem é muito rápida.
- 6 Transferir os vermes para um tubo de centrifugação estéril e triturar com um fino bastão de vidro, reduzindo-os a pó bem fino. Nesta operação é preciso cautela porque os vermes ressecados se projetam à longa distância sob a pressão do bastão.
- 7 Juntar ao pó 10 a 15 ml de álcool-éter, agitar bem e deixar em contacto uma ou duas horas.
- 8 Esgotar o álcool-éter e dessecar o pó novamente no vácuo, durante 10 a 15 minutos (O resíduo deixado pela evaporação desta nova porção de álcool-éter dá ainda reação positiva para lipóides).
- 9 Juntar ao pó a quantidade de liquido extrator indicado pela tórmula:

$$\frac{82 \text{ M} + 23 \text{ F}}{5.000} = \text{N}$$

Usar como líquido extrator solução de Coca mertiolatada a 1:5.000 ou 1:10.000. Deixar em contacto dois ou três dias à temperatura ambiente ou oito dias no refrigerador.

10 — Centrifugar em alta rotação durante 20 minutos. O líquido sobrenadante, límpido e incolor, constitúi a solução estoque que deve ser ampolada ou guardada em flaconétes estéreis. Este extrato mostra-se estéril, não revela traços de proteínas (pelo ácido fosfo-molibdico, ácido fosfotúngstico ou pela reação do biureto, nem de lipóides, pelo ácido ósmico, sendo a reação de Molish nitidamente positiva).

Não experimentamos a extração rápida a quente (56°C) preconizada por Meyer e Pifano (6) e Coutinho (3).

Inicialmente preparamos o antigeno por técnica semelhante à de Meyer e Pitano (5) e Coutinho (1). A titulação foi ieita, segundo as indicações de Vianna Martins (9), em indivíduos, eliminando ovos de S.mansoni. Obtivemos um titulo, com muita margem de segurança, de 1:8.000. Aliás, esse título é um número arbitrário porque consideramos a solução estoque como sendo a 1% e pelo processo usado os vermes não são pesados mas contados indistintamente e a extração é feita na proporção de 100 vermes para cada ml de liquido extrator. Demos a esse antigeno o prefixo Pl, para nosso contrôle.

Fizemos um lote de antígeno pela técnica que acabamos de descrever, utilizando porém um número de vermes correspondente ao utilizado em Pl. Esse antígeno foi designado P5 e usado na mesma diluição de 1:8.000.

Pl foi testado inicialmente em 19 casos (tabela I).

Pl e P5 foram testados comparativamente em 89 casos (tabela II).

P5 foi testado isoladamente em 44 casos (tabela III).

Todas as provas foram controladas, usando-se como testemunha o liquido de Coca mertiolatado. A leitura das reações obedecen ao seguinte critério:

Reação negativa (—). Pápula igual ou ligeiramente maior que a formada pelo liquido testemunha, ou pápula inicial.

Reação duvidosa (±). Pápula com menos do dóbro da do testemunha, de bordos lisos ou regulares. Pápula maior de bordos indecisos.

Reação positiva fraca (+). Pápula com o dóbro da do testemunha, um tanto irregular ou um pouco maior, de bordos lisos.

Reação positiva média (++). Pápula com cêrca de 3 vêzes o diâmetro da do testemunha de bordos um tanto irregulares ou o dôbro da do testemunha e pseudópodos nítidos.

Reação positiva forte (+++). Pápula com mais de 3 vêzes o diâmetro da do testemunha ou um pouco menor porém com pseudó-podos muito longos.

Tabela i

Casos testados com antigeno P1.

	Comprovadamente positivos	Suspeitos de zonas endêmicas	Não suspeitos Ex. fezes neg.
Número de casos	5	7	7
Positivos	5	2	
Negativos	0	5	6

Tabela II

Casos testados comparadamente com os antígenos P1 e P5.

	Comprovadamente positivos	Suspeitos com Ex de fezes neg-	Não suspeitos Ex. de fezes neg
Número de casos	. 11	67	11
Positivos P1	10	14	0
Positivos P5	11	18	0
Negativos P1	0	45	11
Negativos P5	0	45	11
Duvidosos P1	1	8	0
Duvidosos P5	0	4	0

Em 8 casos houve pequena discordância entre duvidoso e fracamente positivo. Em 7 casos positivos as reações foram mais nítidas com P5 e em um caso com P1. A concordância, práticamente, foi de 100%, ambos com especificidade e sensibilidade 100%.

TABELA III

Casos testados com antígeno P5, em pessoal residente na cidade de Caratinga, Minas

Gerais, zona de alta endêmicidade

	Sem indicação	Sabidamente positivos	Tratados, sem exames de fe- zes após o tra- tamento	Com exame de fezes negativo	Suspeitos Sem exame de fezes
Números de casos	8	10	4	21	1
	8	9	1	8	1
	5	1	3	13	0

Houve uma discordância entre os comprovadamente positivos.

Os casos com exame de fezes negativos não são excluidos com segurança numa zona de alta endemicidade. Sete dos oito indivíduos com reações positivas fizeram um único exame de fezes e um fêz dois exames negativos.

Num dos casos não suspeitos da *Tabela I* cuja reação era positiva (++) foi feita nova reação, cêrca de dois meses depois, com antigeno obtido pelo processo exposto (antigeno P8-15); o resultado foi negativo.

Em conclusão verifica-se que o antígeno preparado pela técnica proposta não é inferior ao obtido pelo processo de Meyer e Pifano (5), tendo mesmo uma ligeira superioridade devido talvez à maior pureza do extrato.

Recentemente Coutinho (3), em trabalho que nos chegou às mãos depois de elaborado o nosso, apresentou uma nova técnica de preparo do antígeno de vermes adultos. Consta, sumàriamente, em tratar os vermes por repetidas porções de acetona, secagem no ambiente de laboratório ou na estuía a 37°C e extração aquosa em geladeira ou em banho-maria a 56°C, conforme técnica de Meyer e Pifano (6). O autor ressalta a maior sensibilidade das reações com esse novo antígeno.

RESUMO

É apresentada uma nova técnica ao preparo do antigeno para intradermoreação na esquistossomose. Consiste em tratar os vermes adultos, obtidos de cobaias, por uma mistura, em partes iguais, de álcool absoluto e éter sulfúrico p. a., dessecamento no vácuo, trituração dos vermes secos e lavagem do pó com outra porção de álcool-éter; nova secagem no vácuo e extração pelo líquido de Coca mertiolatado. A extração é feita na proporção de 1:200. A quantidade de líquido extrator a ser usada em cada amostra de pó é dada pela fórmula:

$$\frac{82 \text{ M} + 23 \text{ F}}{5.000} = X$$

donde 82 e 23 representam os pesos médios, em *meg* dos exemplares adultos machos e fêmeas, (M) e (F), respectivamente.

O antigeno foi testado comparativamente com outro preparado, segundo a técnica de Meyer e Pifano (5), em 89 casos (11 comprovadamente positivos, 67 de individuos de zonas suspeitas e 11 sabidamente negativos). Os resultados concordam em, práticamente, 100% dos casos, porém o novo antígeno se mostrou ligeiramente mais sensível e específico.

O método proposto é de mais fácil consecução, sendo o antigeno obtido em grande gráu de pureza, sem traços de proteinas e lipóides e com reação de Molisch (polisacárides) positiva. O resíduo obtido pela evaporação dos líquidos de lavagem (álcool-éter), reage fortemente com o ácido ósmico, revelando sua natureza lipoídica.

SUMMARY

A new technique for antigen preparation to schistosomiasis intradermal diagnosis is presented. It consists in: I) — Treat the adult worms (obtained from guinea-pigs) with a mixture of alcohol and ether in equal amounts, before dissecating in vacuum. II) — Triture the dried worms and wash the power with another amount of alcohol-ether. III) — Vacuum again and extract with the Coca merthiolated liquid. The extraction is made in the proportion of 1:200. The quantity of extractor liquid to be used, with each amount of power, is given by the formula:

$$\frac{82 \text{ M} + 23 \text{ F}}{5.000} = \text{N}$$

N is the quantity (ml) of extractor liquid to be used. 82 and 23 are the medium weight (mcg) of the adult worms, males (M) and females (F) respectively.

The antigen was tested comparatively with another one prepared according to the Meyer and Pifano's method (5) in 89 cases (11 surely positives, 67 from suspected zones individuals and 11 surely negatives). The results agree in 100% the cases but the new antigen has shown to be slightly more sensible and specific.

The antigen by the proposed method is more easely prepared being obtained in a high degree of purity without traces of proteins and lipoids and presenting Molisch reaction (polysaccharides) positive.

The residual obtained by the evaporation of the alcool-ether mixture reacts strongly with the osmic acid showing its lipoidic nature.

BIBLIOGRAPHY

- Coutinho, J. O. Nota sóbre a intradermo-reação no diagnóstico da esquistossomose de Manson. Rev. Paul. Med., 33: 15-20, 1948.
- 2. Coutinho, J. O. Contribuição ao estudo da esquistossomose mansônica no Estado da Bahia, Brasil. Arq. Hig. Saude Publica, 16: 1-42, 1951.
- 3. Continho, J. O. Nova técnica de preparo de antígeno de vermes adultos para a intradermo-reação na esquistossomose. Folia Clin. Biol. 18: 121-124, 1952.
- 4. Fairley, N. H. & Willians, F. E. A preliminary report on an intradermal reaction in Schistosomiasis. Med. J. Australia, 14: 811-818, 1927.
- Meyer, M. & Pifano, F. El diagnostico de la Schistosomiasis por la Intradermorreacción con un antigeno preparado de vermes adultos de S. mansoni. Rev. Sanid. Assist. Social, 10: 3-44, 1945.

- Meyer, M. & Pijano, F. Experiencias de ocho años en la elaboración y aplicación de um antigeno de vermes adultos de Schistosoma mansoni para la intradermoreacción diagnostica de la Bilharziasis. Arch. Venez. Patol. Trop. Paras. Med., 1: 1-35, 1949.
- Oliver- Gonzalez, J. & Pratt, C. K. Skin and precipitin reaction to antigens from cercariae and adult of Schistosoma mansoni. Puerto Rico J. Publ. Health Trop. Med., 2: 242-248, 1945.
- 8 Taliaferro, W. H. & Taliaferro, L. G. Skin reaction in persons infected with Schistosoma mansoni. Puerto Rico J. Publ. Health Trop. Med., 7: 23-35, 1931.
- Vianna Martins, A. Diagnóstico de Laboratório de Esquistossomose Mansoni. Tese de concurso para Proj. Catedrático. Faculd. Med. Univ. Minas Gerais. Imprensa Oficial, 265 pp. 1949.

cm 1 2 3 4 5 6 7 SciELO 11 12 13 14 15 16 17



A NEW BOTHROPS FROM BRAZIL. BOTHROPS BRAZILI, SP. NOV.

A. R. HOGE

(Departament of Ophiology, Instituto Butantan, S. Paulo, Brazil)

Among the small collection of snakes received from the Cooperativa Agricola "Tomé Assú", a new species had been discovered which is desirable to describe and name at present time.

Bothrops brazili, sp. nov. (*)

Holotype — N.º 14.721 in the Butantan Institute, a 9 from Tomé Assú, Acará Mirim River, State of Pará, Brazil.

Allotype — N.º 14.715 in the Butantan Institute collection, a δ from the same locality as holotype.

Diagnosis — A Bothrops without nasal pore; subcaudals in two rows; 2nd upper labial forming the anterior border of loreal pit; a very enlarged canthal. This species is allied to Bothrops jararacussu (Lacerda) but easily distinguished from it by the different shape of skull, pattern and colour.

At first glance B. brazili is very similar in pattern to B. neglecta Amaral and B. pirajai Amaral but easily distinguished by the absence of nasal pore in B. brazili.

Description of holotype — Internasals small, in contact behind the rostral which is deeper than broad; 2nd canthal very large, a little longer than broad, separated from its fellow by three keeled scales (in front only two; supraoculars large, longer than broad, separated by 8 keeled scales; top of head and neck covered with small keeled scales; 8-9 upper labials, 2nd forming the anterior border of loreal pit; first upper labial as deep as long, all other labials, except the last, deeper than long; 11-10 lower labials, two anteriors in contact behind the symphysial; nasal divided without pore, separated from the 2nd upper labial by a series of three diminute scales; dorsal scales

^(*) Dedicated to Dr. Vital Brazil, founder of the Instituto Butantan. Received for publication on July, 1923.

strongly keeled in 28 on the neck, 26 at midbody and 20 series at anus. The keels of scales are very similar to those of *Lachesis muta* (L.) Ventrals 179; caudals 54/54; anal single. Ground colour pale brown, nearly white when "stratum corneum" is lacking); 14 blotches (for shape see Fig. 4) on the body and 14 on the tail (Fig. 7); belly white, powdered with brown on the sides (Fig. 5).

Head of the ground colour without markings, chin white; lower parts of tail white gradually powdered with brown posteriorly (Fig. 5).

Length of body (head inclusive) 1.003 mm.; tail 155 mm.

Aliotype — N.º 14.715, &. Dorsals 25; ventrals 175; anal single; caudals 59/59+5; 8 upper labials, the second forming anterior border of the loreal pit, but at the left side the second upper labial is semi-divided; 12-11 lower labials; length of body + head 672 mm.; tail 120 mm.; head 35 mm. Colour and patterns nearly the same as holotype but dorsal markings a little smaller downwards. Other difference in caudals and ventrals are doubtless sexual dimorphism.

RESUMO

Descrição de uma nova espécie de *Bothrops, B. brazili*, procedente de Tomé Assú, Estado do Pará, Brasil.

A nova espécie è próxima a B. jararacussu (Lacerda) porém diferente pelo formato do crâneo, desenho, colorido e tipo de carenas.

Acknowledgements — We are indebted to Mr. Francisco Alves Soares, Director of the "Colonia Estadual Tome Assú" and Mr. Hiraga Renkichi, President of the "Cooperativa de Tome Assú" for the gift of a small collection of snakes.

BIBLIOGRAPHY

Amara!, A. do - New Genera and Species of Snakes - Proc. New England Zool. Club 8: 100, 1923.

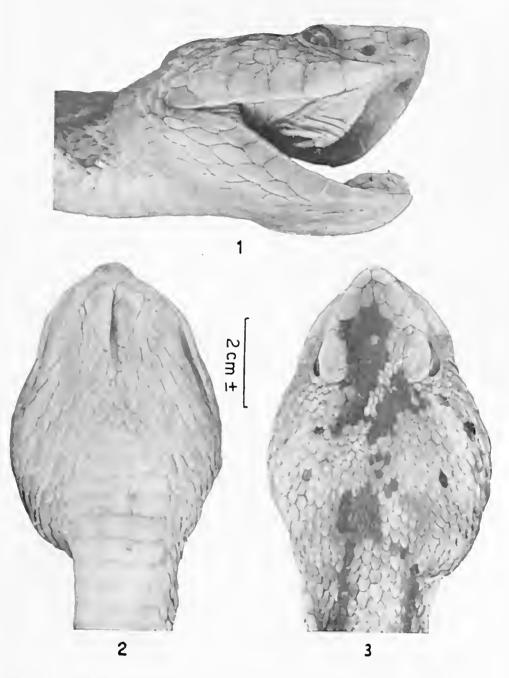


Fig. 1 — Photography Bothreps brazili, lateral view of head (Holotype),

Fig 2 - Photography Bothrops brazili, ventral v.ew of head (Holotype).

Fig. 3 - Photography Bothrops brazili, dotsal view of head (Holotype).

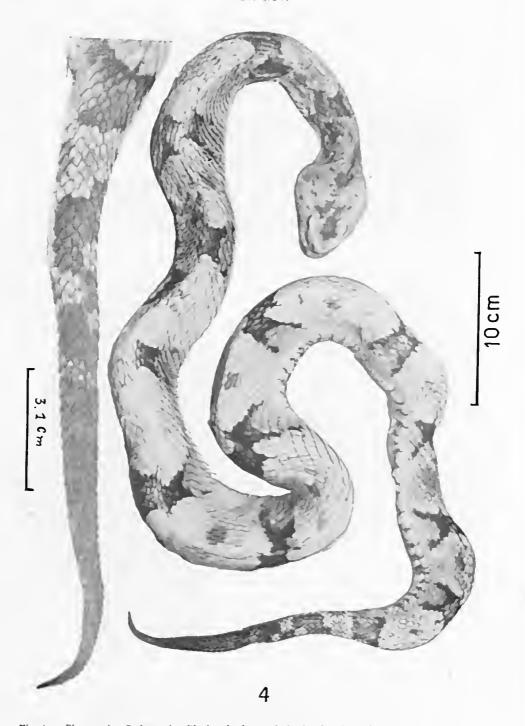


Fig. 4 - Photography Bothrops brazili, dotsal view and detail of tail (Holotype).

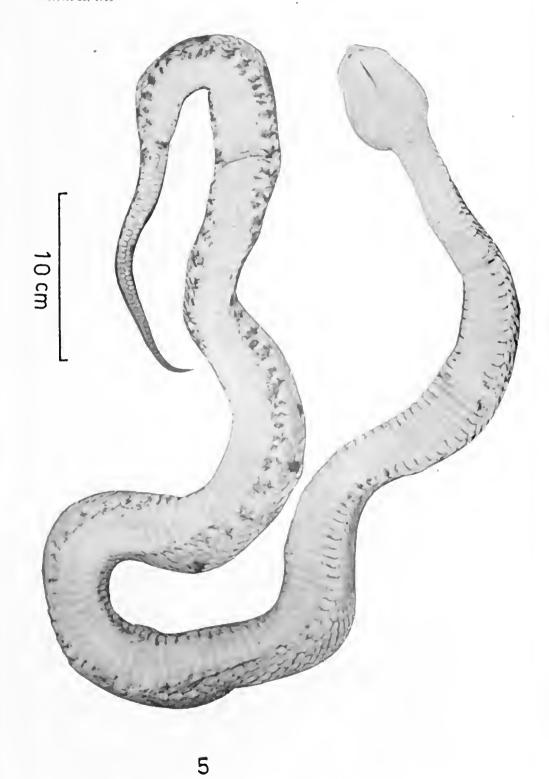
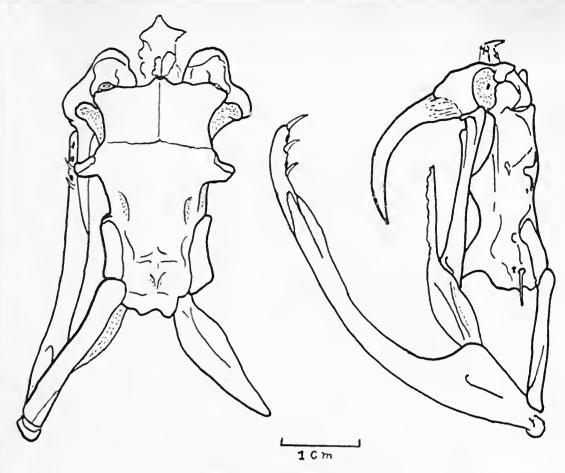


Fig. 5 - Photography Bothrofs brazili, ventral view (Holotype).



Fig. 6 - Photography Bothrops brazili, dorsal view (Allotype).



Shull of Bothrops brazili (Holotype)

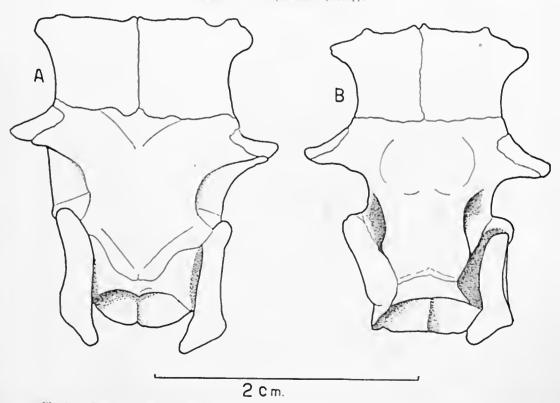
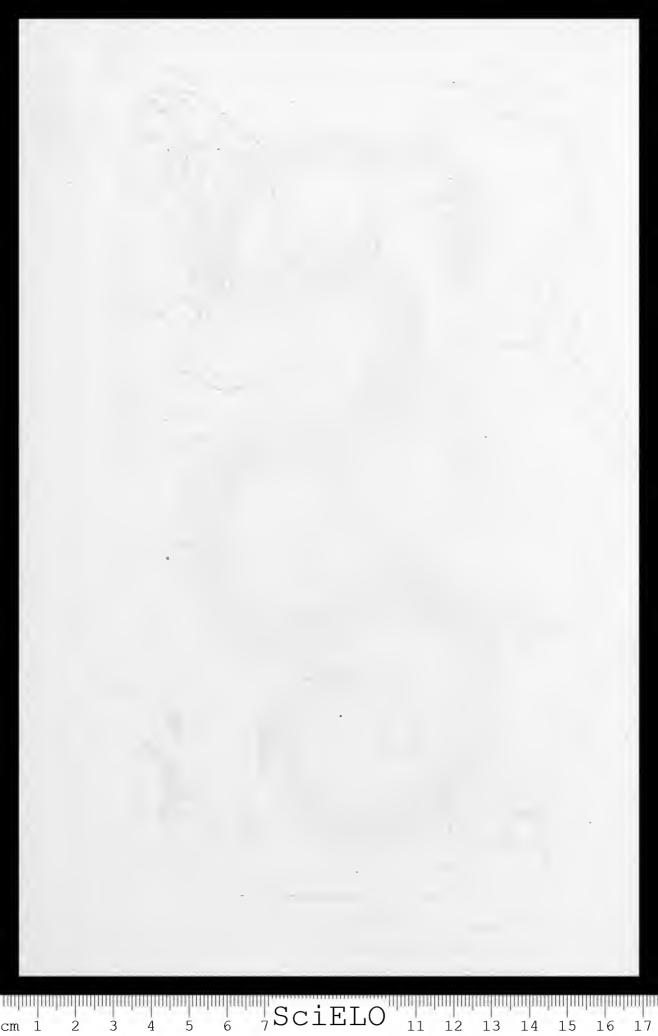


Fig. 7 - Camera lucida drawning of:

A - Bothrops jararacussu, dorsal view of skull,

B - Bothrofs brazili, dorsal view of skull.

cm 1 2 3 4 5 6 7 SciELO 11 12 13 14 15 16 17



ESQUISTOSSOMOSE EXPERIMENTAL

3. Cuniculus pacca pacca e Grison furax, novos animais receptiveis a infestação pelo Schistosoma mansoni.

JOSÉ M. RUIZ

(Secção de Parasitologia, Instituto Butantan, São Paulo, Brasil)

Prosseguindo na série de experimentações que encetamos no sentido de ampliar o conhecimento sobre os animais silvestres passíveis de infestação pelo Schistosoma mansoni, na presente nota damos notícia de dois representantes comuns da nossa fáuna receptíveis à infestação experimental: a "paca", conhecidissimo roedor da família Caviidae e o "furão", carnívoro representante da família Mustelidae.

MATERIAL E MÉTODO

Animais recebidos pelo Instituto, no estado de adultos: um exemplar de paca do sexo feminino, procedente de localidade não especificada do Estado de São Paulo e três exemplares de furões, dois dos quais procedentes de Feira de Sant'Ana, Bahia e um de Avaré, Estado de São Paulo. Os três exemplares (2 fêmeas e 1 macho) da mesma espécie. Grison furax Thomas, 1907, seg. Vieira, foram colocados na mesma gaiola.

Exames de fezes repetidos para a pesquisa de ovos de S. mansoni, usandose o processo de sedimentação, resultaram negativos durante o periodo de incubação da infestação experimental.

Infestação por via transcutânea, região abdominal, raspando-se préviamente os pélos e humedecendo a região com água morna.

A paca foi infestada com cêrca de 600 cercárias de S. mansoni, obtidas pela dissecação de 4 moluscos procedentes de Dom Cavati, Minas Gerais. A avaliação numérica das cercárias foi baseada na média da contagem das mesmas em cada gota de líquido, utilizando para a infestação um número determinado de gotas. A infestação foi feita no ambiente de laboratório, aque-

Recebido para publicação em Abril de 1953.

cendo e iluminando a região ventral do animal com uma lâmpada comum. Exposição à infestação durante cêrca de 50 minutos, tempo suficiente para a evaporação do líquido.

Os furões foram infestados de maneira semelhante mas foi necessário anestesiá-los pelo éter, dada a agressividade de que são dotados êstes animais. Foram utilizados quatro moluscos do mesmo lote de Dom Cavati, porém o número de cercárias não foi determinado. Os fragmentos de moluscos foram distribuídos equitativamente, sobre o ventre dos 3 animais.

A coleta de vermes no sistema porta foi feita por processo manual. Evitamos o método de perfusão para não provocar possíveis alterações nos órgãos destinados a futuros estudos anátomo-patológicos.

O número de vermes coletados, portanto, fica aquém do realmente existente na infestação.

RESULTADOS

"Paca", Cuniculus pacca pacca.

Data da infestação: 3 de dezembro de 1952. Eliminação de ovos: 29 de janeiro de 1953. Tempo decorrido entre a infestação e a eliminação de ovos: 57 dias. Data da necrópsia: 12 de março de 1953.

Vermes coletados: 24 machos e 10 fêmeas.

De 29/1/53 a 12/3/53 foram feitos 16 exames de fezes dos quais 13 positivos para ovos de *S. mansoni*.

"Furões", Grison furax.

Data da infestação: 4 de dezembro de 1952. Eliminação de ovos: 29 de janeiro de 1953. Tempo decorrido entre a infestação e a eliminação de ovos: 56 dias.

1.ª necrópsia: Um exemplar femea: 30 de janeiro de 1953.

Vermes coletados: 137 machos e 12 fêmeas.

O casal restante permaneceu na mesma gaiola de 30 de janeiro a 26 de fevereiro de 1953. Nesse período foram praticados 7 exames de fezes dos quais 6 foram positivos para ovos de S. mansoni.

2.ª necrópsia: Um exemplar macho: 26 de tevereiro de 1953. Vermes coletados: 182 machos e 4 fêmeas.

A fêmea restante permaneceu em cativeiro, continuando a eliminação de ovos regularmente. De 28 de fevereiro a 16 de março de 1953 foram efetuados 5 exames de fezes todos positivos para ovos de *S. mansoni*.

3.ª necrópsia: Último exemplar têmea: 17 de março de 1953. Vermes coletados: 310 machos e 16 têmeas.

COMENTÁRIOS

Comparado com o que se verifica nos hospedeiros melhor adaptados à infestação pelo S. mansoni, considerando o tempo de incubação e a regularidade de eliminação de ovos. estes animais mostraram-se muito propicios à infestação que apresenta um curso normal.

A eliminação de ovos viáveis foi verificada com grande regularidade, apesar da pequena proporção de fêmeas encontradas em todos os animais. Este fato evidencia a importância dêstes animais como prováveis disseminadores da parasitose no caso de se verificar a infestação em condições naturais, fato perfeitamente admissivel.

Os animais não deram mostra da infestação, ao contrário adquiriram melhor aspecto e engordaram no periodo de cativeiro.

As lesões macroscópicas observadas no figado se apresentam como pontuações esbranquiçadas, esparsas e relativamente raras, apesar do grande número de vermes machos não acasalados e bem desenvolvidos que permaneciam na veia porta e suas grandes ramificações intra-hepáticas e mesentéricas.

Os vermes coletados, tanto da paca como dos furões, apresentam geralmente o aspecto normal: todas as fêmeas acasaladas e bem desenvolvidas; machos robustos em geral, apenas alguns exemplares com desenvolvimento anormal (formas pequenas). O estudo morfológico dos vermes será feito em separado.

RESUMO

Foram infestados no laboratório, com cercárias de Schistosoma mansoni, por via transcutânea, uma paca, Cuniculus facca facca e 3 furões, Grison furax.

A paca foi infestada com cêrca de 600 cercárias e eliminou óvos viáveis a partir do 57º dia da infestação. Na necrópsia, feita aos 118 dias de infestação, foram coletados, por processo manual. 24 exemplares machos e 10 exemplares fêmeas de S. mansoni, adultos e perfeitamente desenvolvidos.

Os furões foram infestados por um número desconhecido de cercárias. O exame de fezes coletivo revelou a presença de ovos viáveis de *S. mansoni* no 56º dia da infestação. A eliminação de ovos nestes animais mostrou-se muito regular.

As necrópsias foram feitas no 57°, 74° e 103° dias da infestação tendo sido coletados os seguintes vermes adultos, respectivamente: 137 machos e 13 fêmeas, 182 machos e 4 fêmeas e 310 machos e 16 fêmeas.

SUMMARY

One specimen of Cuniculus pacca pacca, paca and three specimens of Grison furax, furão were experimental infected by Schistosoma mansoni.

Cuniculus pacca pacca was infected with approximately 600 cercariae cutaneously. Viable eggs were found in stools 57 days after exposure to infection and were evacuated regularly during the observation time. The necropsy made 118 days after infection revealed 24 males and 10 females of adult S. mansoni.

Grison furax were infected with unknown number of cercariae. Collective stools examination reveals S. mansoni eggs at the 56th day of infection. Elimination of viable eggs was observed to be very regular in those animals.

Necropsy of *Grison furax* specimens were made 57, 74 and 103 days after infection and the following adult worms were recovered: 137 males and 13 females, 182 males and 4 females and 310 males and 16 females respectively.

BIBLIOGRAFIA

Ruiz, J. M. — Shistosomose experimental. 1 — Receptividade de Procyon cancrivorus à iniestação pelo Schistosoma mansoni, Mem. Inst. Butantan, 24 (2): 111-113, 1952.

A NEW GENUS AND SPECIES OF BOINAE FROM BRAZIL. XENOBOA CROPANII, GEN. NOV., SP. NOV.

A. R. HOGE

(Department of Ophiology, Instituto Butantan, S. Paulo, Brazil)

Xenoboa, gen. nov.

Genotype: Xenoboa crofanii, sp. nov.

This new genus is characterized by having the anterior teeth strongly enlarged; labials and rostral with deep pits; tail short, prehensil; dorsal scales very large and smooth; hemipenis with papillous apex.

Xenoboa is related to *Boa* L. and *Epicrates* Wagler but differs from *Epicrates* by the type of dentition and the deep pits, and from *Boa* by the very large scales and shorter tail.

Xenoboa eroțanii, gen. nov., sp. nov. (*)

Holotype - A & n.º 15.200 in the Butantan Institute collection.

Type locality - Miracatu, State of São Paulo, Brazil.

Collected by Mr. José Santos.

Body stout, a little compressed laterally, tail short prehensil; head distinct from neck, covered with shields; rostral with a pit on each side; supraoculars a little enlarged; supralabials 14-13 with deep pits; a large preocular, eye surrounded by 9 scales; ventrals 179; dorsals in 30 series at midbody; anal single; caudals 1+3/3+48; body+head 1113 mm.; tail 167 mm.; head 54 mm.

Body olive-green with rhomboidal dorsal blotches (Fig. 4) and a series of irregular spots on the sides (Fig. 4).

Rescived for publication on April 27, 1953.

^(*) Dedicated to the late Ottorino de Fiori, Baron de Cropani, director of the Instituto Vulcanológico at Catania.

Belly yellow, anterior part with small black edges on each ventral. The black edges increasing in size tailwards (Fig. 5).

Hemipenis with plicae, papilous at the apex, "sulcus spermaticus" forked.

Skull — nasals thrice as long as broad; prefrontal broader than long; postfrontal not in contact with frontal, which is broader than long; mandibular with 15 teeth, anterior strongly enlarged; palatine without processus and with 5 teeth; pterigoid with 5 teeth.

The skull is much shorter and broader than in Boa or Epicrates.

RESUMO

Descrição de um gênero novo e espécie nova, Xenoboa cropanii. O novo gênero Xenoboa é caracterizado por ter os dentes anteriores muito aumentados; labiais e rostral com fossetas profundas, cauda curta e preensil; escamas dorsais lisas e grandes; hemipenis com plicas e apex com papilas.

Xenoboa é próxima de Boa L. e Epicrates Wagler porém se distingue de Epicrates pelo tipo de dentição, e fossetas labiais; e de Boa pelas escamas muito aumentadas, e cauda mais curta.

Xenoboa cropanii tem cabeça distinta do pescoço; 14-13 supralabiais; ôlho circundado por 9 escamas; 179 ventrais; dorsais em 30 séries no meio do corpo; anal simples; caudais 1+3/3+48; corpo mais cabeça 1113 mm.: cauda 167 mm.; cabeça 54 mm.

Coloração verde oliva com manchas romboidais nas costas; ventre amarelo e as placas ventrais orladas de preto, sendo que a orla preta aumenta gradualmente em largura na direção da cauda.

BIBLIOGRAPHY

Linnaeus, C. — Systema naturae, 10 ed. 1: 214, 1758. Holmiae. Wagler. J. G. — Natürliches system der Amphibien, München: 167, 1830.

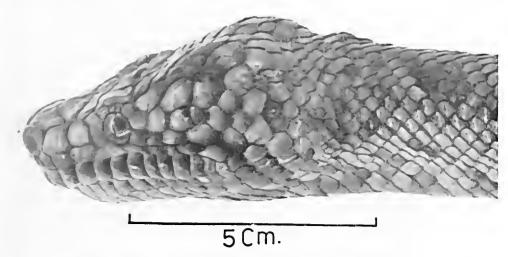
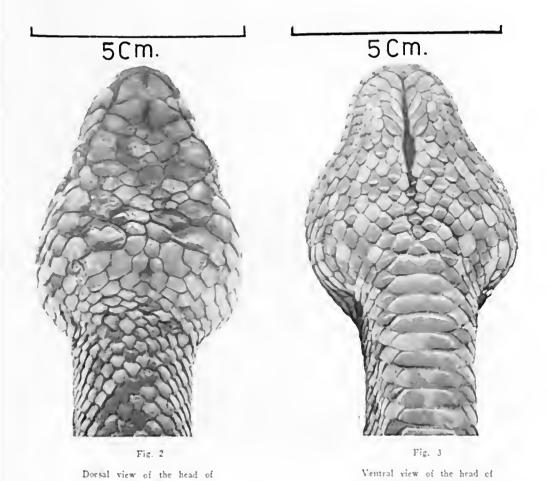


Fig. 1 - Lateral view of the head of Xenoboa cropani, sp. nov



Nenoboa crojanii, sp. nov.

Xenobea crepanii, sp. nov.

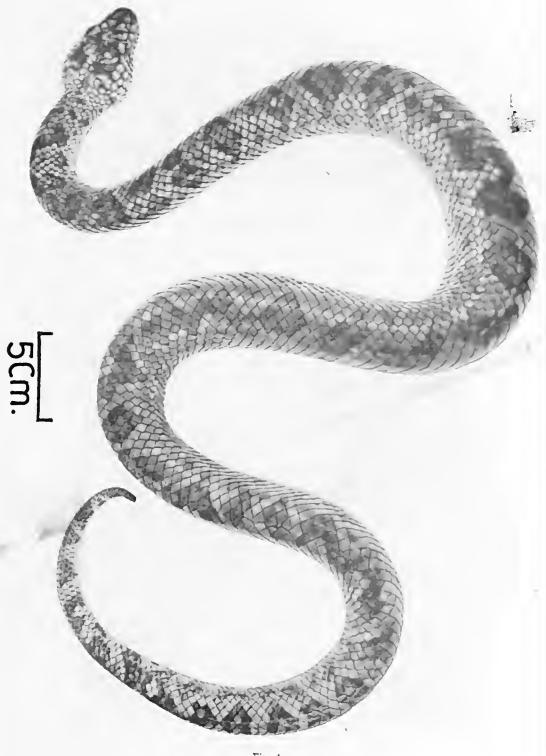
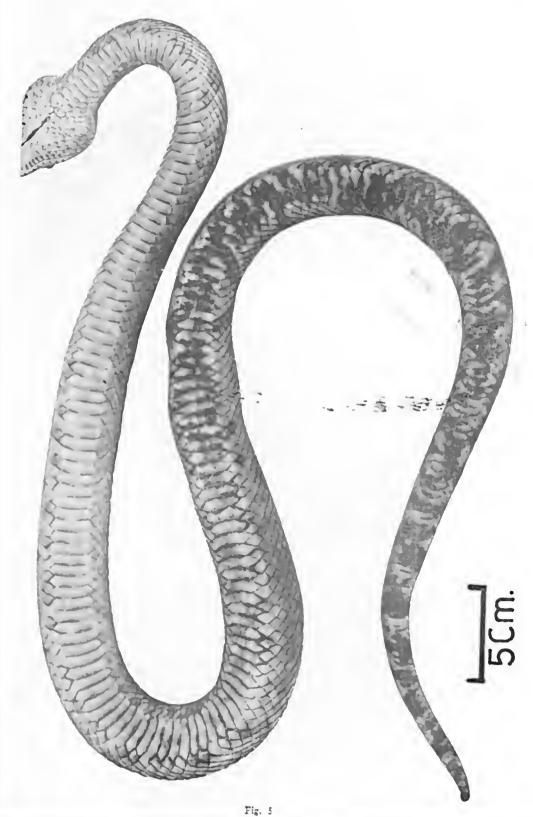


Fig. 4

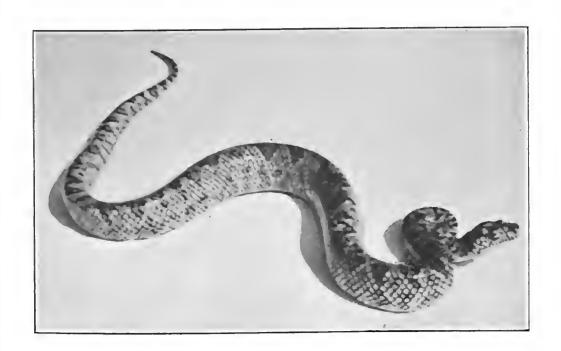
Kenebea crefanii, sp. nov., dorsal view.



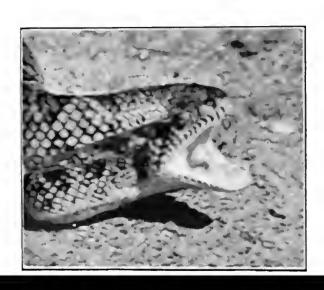
Renobes creganii, sp. nov., ventral riew.

 $_{
m cm}$ $_{
m 1}$ $_{
m 2}$ $_{
m 3}$ $_{
m 4}$ $_{
m 5}$ $_{
m 6}$ $_{
m 7}SciELO$, $_{
m 11}$ $_{
m 12}$ $_{
m 13}$ $_{
m 14}$ $_{
m 15}$ $_{
m 16}$









 $_{
m cm}$ 1 2 3 4 5 6 7 m SciELO, 11 12 13 14 15 16

THE ENZYMATIC ACTIVITY OF SPIDER VENOM

On the influence of sulfonated polysaccharides on the proteolytic and hyaluronic acid splitting activity of spider venom

E. KAISER

(Department of Biochemistry, University of Vienna, Austria)

In a previous communication we discussed the proteolytic activity of the venom of Lycosa raptoria and Ctenus nigriventer. When casein is employed as substrate the pH optima of the proteolytic enzyme are pH 7.5 and pH 8.0 for the venom of Lycosa raptoria and Ctenus nigriventer respectively. Calculation of the proteolytic activity in respect to crystalline trypsin (Armour) gives an amount of 3 — 4 crystalline trypsin for one milligramm of the venom (Kaiser, 13, 14). The negative results of other authors which were not able to detect proteolytic enzymes in spider venom (Vellard, 21, 22) may be caused by their method employed whose accuracy is not enough to detect minimal amounts of proteolysis.

Different authors have investigated the inhibiting action of heparin, a negatively charged macromolecule, on tryptic proteolysis. Glazko and Ferguson (9) and Horwitt (10, 11, 12) showed that trypsin's activity is inhibited by heparin employing casein as substrate. Concentrations between 500 and 600 U. heparin are still active. Later Rocha e Silva and Andrade (19) and Wells et al. (23) demonstrated that crystalline trypsin is inhibited by heparin and that commercial trypsin preparations were not influenced. We have taken up this question again in this laboratory and demonstrated that heparin (liquemin Roche, heparin Vitrum) in concentrations from 62.5 — 1200? were without any influence on tryptic proteolysis. The employed crystalline trypsin and commercial trypsin preparations. Casein, fibrinogen, fibrin and gelatine served as substrates (14).

In this communication we will discuss the influence of heparin and sulfonated peptic acid on the proteolytic activity of spider venoms. Casein was employed as substrate.

Received for publication, on May 12, 1953.

METHODS

The proteolytic activity was determined according to the method of Kunitz (15), modified in this laboratory (Pantlitschko, Kaiser and Andres, 18). This method is based on measuring the ultraviolet absorption of tyrosin and tryptophan freed by proteolytic enzymes from the substrate. There is a simple, linear correlation between extinction and enzyme concentration which makes it possible to calculate enzyme concentration and the inhibition of the enzymatic process.

The venoms of Lycosa raptoria and Ctenus nigriventer were tested. As inhibitory substances heparin (liquemin Roche, heparin Vitrum) and different preparations of sulfonated peptic acid were investigated. The average molecular weight of the sulfonated ranged from 20.000 — 90.000. Heparin (62,5 — 1200) nor sulfonated peptic acid (100 — 2000) showed any inhibitory action on the proteolytic of spider venom. The proteinase of spider venom behaves in this respect like crystalline trypsin from beef pancreas.

RESULTS

Besides the described proteolytic enzyme in spider venom, we were able to detect a considerable amount of an enzyme splitting hyaluronic acid (arachnomucinase). The occurrence of this hyaluronic acid splitting enzyme (hyaluronidase) in animal organs and different bacterial strains is well known Meyer (16), Gibian (8). Also the venom of insects and of different snakes contains different amunts of hyaluronidase, a fact pointed out by different authors. (Duran — Reynals (3,4), Tabarini — Castellani (20), Eichbaum (5), Zeller (25), Werle et al. (24), Chain and Duthrie (1), Farilli (6), de Marco (2,), etc.).

We were able to show in this laboratory that strongly negative charged chain molecules (sulphuric esters of polysaccharides) are potent inhibitors of hyaluronidase in relatively small concentrations. Negatively charged spheric molecules are without any effect. Positively charged macromolecules (histone, protamine, peptone) are activators of the breakdown of hyaluronic acid by hyaluronidase (Pantlischko, Kaiser) (17).

We have investigated the action of negatively charged chain molecules on the activity of arachnomucinase. The activity was determined according to the method described in this laboratory (17). Heparin and sulfonated hyaluronic acid were investigated. Table 1 shows the results with heparin. Heparin is active up to a concentration of 5^{10-5} A concentration of $2,5^{10-4}$ gives a complete inhibition of arachnomunicinase. Between concentrations of 4^{10-3} and $2,5^{10-4}$ there exists a nearly linear correlation between the inhibition of arachnomucinase's activity and the concentration of heparin. The same results

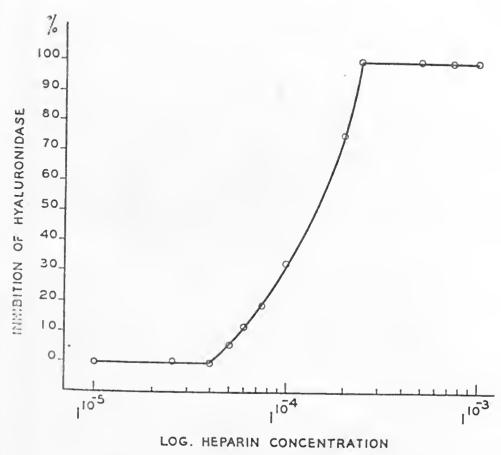


TABLE 1

Inhibition of arachnomucinase by different concentrations of heparin (Method: Panthischko, Kaiser, 1951).

could be found with sulfonated hyaluronic acid. Testicular hyaluronidase is inhibited by similar concentrations. Basic substances like histone, protamine and peptone are activators of the arachnomucinase. It seems that at least in this respect there exists no difference between testicular hyaluronidase and arachnomucinase.

SUMMARY

There is no influence of sulfonated polysaccharides (heparin, sulfonated pectic acid) on the proteolytic activity of spider venom. The enzyme from spider venom splitting hyaluronic acid (arachnomucinase) is inhibited by heparin and sulfonated hyaluronic acid up to very small concentrations.

There seems to exist, at least in this respect, no difference between the proteolytic enzyme of spider venom and crystalline trypsin on the one hand

and between testicular hyaluronidase and the arachnomucinase detected in spider venom.

ZUSAMMENFASSUNG

Sulfurierte Polysaccharide (Heparin, sulfurierte Pektinsäuse) üben keinen Eifluss auf das proteolytische Ferment der Spinnengifte aus. Das Hyaluronsäure spaltende Ferment der Spinnengifte (Arachnomucinase) wird durch Heparin und sulfurierte Hyaluronsäure noch in sehs kleinen Konzentrationem gehemmt.

Es scheint, zumindest in dieser Hinsicht, kein Unterschied zwischen dem proteolytischen Ferment des Spinnengiftes und kristallisiertem Trypsin einerseits und der Arachnomucinase und Hodenhyaluronidase andererseits zu bestehen.

RESUMO

Os polisacárides sulfonados (heparina, ácido peptico sulfonado) não têm ação sobre o efeito proteolítico do veneno de aranha. O enzima do veneno de aranha que cinde o ácido hialurônico (aracnomucinase), é inibido por pequenas quantidades de heparina e ácido hialurônico sulfonado. Sob êsse aspecto, parece não existir diferença, de um lado entre o enzima proteolitico de veneno de aranha e a tripsina cristalina, e por outro lado, entre a hialuronidase testicular e a aracnomucinase encontrada no veneno de aranha.

> Acknowledgment - Our thanks are due to Prof. Dorival da Fonseca Ribeiro (Butantan Institute, São Paulo) for the necessary amounts of spider venom and to Mr. Winkler (Turon A. G., Frankfurt/Main, Deutschland) for the different preparations of sulfonated pectic acid. Crystalline trypsin was kindly supplied by the Armour Laboratories.

LITERATURE

- 1. Chain, E. & Duthier, E. S. Brit. J. Exper. Poth. 21: 324, 1940.
- D. Marco, R. Arch. Sci. Biol. 27: 446, 1941.
 Duron-Reynals, F. Science 83: 286, 1936.
- 4. Duron-Reynals, F. Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. 38: 763, 1938.
- 5. Eichbaum, F. W. Mem Inst. Butontan 20: 95, 1947.
- 6. Favilli, G. Nature 145: 866, 1940.
- 7. Favilli, G. Fenomeni di diffusione nei tessuti, nel loro ospetto fisiologico e potologico (Torino): 86, 1941.
- 8. Gibion, H. Zeit. Angew. Chemic 63: 105, 1951.
- 9. Glazko, A. J. & Ferguson, J. H. Proc. Soc. Exper. Biol. o. Med. 45: 43, 1940.
- 10. Horwitt, M. K. Science 92: 89, 1940.

- 11. Horwitt, M. K. Amer. J. Physiol. 129: 385, 1940.
- 12. Horwitt, M. K. J. Biol. Chem. 156: 427, 1944.
- 13. Kaiser, E. Monatschefte f. Chemie (Wien) in press, 1953.
- 14. Kaiser, E. & Pantlitschko, M. 1953.
- 15. Knnitz, M. J. Gen. Physiol. 30: 291, 1947.
- 16. Meyer, K. Physiol. Rev. 30: 291, 1947.
- 17. Pantlitschko, M. & Kaiser, E. Biochem. Zeit. 322: 137, 1951.
- 18. Pantlitschko, M.; Kaiser, E. & Andres, H. Biochem. Zeit. 322: 526, 1951.
- 19. Rocha e Silva, M. & Andrade, S. C. Science 102: 670, 1945.
- 20. T.tbarini-Castellani, G. Arch. Ital. Med. Sper. 2: 969, 1938.
- 21. Vellard, J. Le Venin des Araignées, Paris, 1936.
- 22. Fellard, J. Los Animales Venenosos, Lima, 1947.
- 23. Wells, J. A.; Dragstedt, C. A.; Cooper, J. A. & Morris, H. C. Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. 58: 57, 1945.
- 24. Werle, E.; Turtur, F. & Bauereis, R. Biochem. Zeit. 319: 337, 1940.
- 25 Zeller, E. A. Advances on Enzymology 8: 449, 1948.



STUDIES ON COMPARATIVE HEMATOLOGY — I. HEMATOLOGIC DATA OF MYRMECOPHAGA T. TRIDACTYLA L., 1758 (TAMANDUA-BANDEIRA) AND TAMANDUA T. TETRADACTYLA L., 1758 (TAMANDUA-MIRIM) (*)

G. ROSENFELD & LAELIA HOEHNE (**)

(Laboratory of Hematology, Instituto Butantan, S. Paulo, Brazil)

By the study of some endemies, human epidemies and epizooties, we are frequently stroken by the scarcety of hematologic data, that would permit the interpretation of blood modifications in wild animals, either in those inoculated in laboratory or in those find in their natural conditions. On the other hand the knowledge of hematologic data of animals from the various points of the zoological scale, will probably facilitate or permit investigations about the physiology and physiopathology of many mechanisms like that of coagulation, phagocytosis, cytogenesis etc. that are till now obscures. These mechanisms will be perhaps more easily cleared when studied in some animals that for some peculiarity, demonstrate new facts or facilitate some experiences. As an example, the fact observed by Svihla and col. (9-10) in the squirrel and the hamster; when these animals hibernate, there is an extraordinary prolongation of the blood clotting time. This fact would permit the study of the mechanism of the thrombosis and endogenous anticoagulants, of great importance for the human physiology and physiopathology. With the deal to report the hematologic data of several animals it was done a study of the blood of anteaters occasionally sent to the Instituto Butantan.

6 specimens of Myrmecophaga tridactyla tridactyla L., 1758 (Tamanduá-Bandeira) coming, 5 from the State of Mato Grosso and 1 from the State

Received for publication on July 5, 1953.

^(*) This study was supported by the Conselho Nacional de Pesquizas.

^(**) Contracted with funds of the Conselho Nacional de Pesquizas. Recebido para publicação em 5 de junho de 1953.

MATERIAL AND METHODS

of S Paulo were examined. It was also examined 1 Tamandua tetradactyla tetradactyla L., 1758 (T. Mirim) coming from the State of Mato Grosso.

The blood for dosings and hematimetric determinations was taken from the cubital vein and heparinized with 1 mg/ml of blood. The specific counts of leucocytes, mean erythorocytic diameter and morphologic aspect were measured in venous blood smears.

It was considered the average of 2 counts of erythrocytes done in 1/5 mm², the dosing of hemoglobin was done in electrophotometer with green filter (525µ), the corpuscular volume was determined in Wintrobe's hematocrit 'centrifuged at 4.000 rpm during 20 minutes. Erythrocytes sedimentation rate was determined in Wintrobe's tube with heparinized blood and the reading was done after 60 minutes. All these determinations were done in duplicate. The reticulocytes were counted in smears by the brilliant cresil blue method, 1.000 erythrocytes were counted for each animal. The mean diameter was measured in 200 erythrocytes, for each animal. The differential count was done in 100 cells in smears stained by Rosenfeld's method (8).

The mean values were determined, beeing s the standard error of individual values and $s_{\overline{x}}$ the standard deviation of the mean. Here are also included the variation coefficients C and $C_{\overline{x}}$ respectively from the individual values and from the mean.

RESULTS

Erythrocytes — The mean number of erythrocytes was of 3.150.000 per mm³. Individual variations were small. The hemoglobin average was 13.28 gr % and varied mostly only in one animal (6227) that was infested with Nematodes in the stomach and Acantocephala in the intestine. Consequently the mean corpuscular concentration of hemoglobin in that animal was 23,6γγ, while in the others varied from 41.0 to 55.5γγ. That animal therefore presented a hipocromia but had no microcytosis, considering the volume or the mean diameter. Other numeric data about the erythrocytes can be observed in table 1. The erythrocytes were circular and biconcaves, presenting no polichromasy, anisocytosis or poiquilocytosis.

Leucocytes — The mean number of leucocytes was 4.980 per mm³, being lower only in one animal (6245) that was suckling a young (6245A). With exception or nr. 6265, all presented a great number of stabform neutrophiles, in spite of presenting no appearent infection. The number of eosinophils was

high in some animals, both in the infected by intestinal parasites as in those where the parasites were not found (Table 2).

The morphologic aspect of the leucocytes presented some special characteristics. The neutrophile granulations were very fine and scarcely visibles (fig. 1, 2, 3, 4) and these from the eosinophiles (fig. 5) were not as well individualized as they are in other mammals because they exist in a great number and become superposed. In the smashed cells (fig. 13) they are evident.

Lymphocytes, monocytes and blood platelets — The lymphocytes and momocytes presented sometimes azurophile granulations. The platelets had hyalomere and chromomere well visible but the last was very thin (fig. 12).

In a general way the morphologic aspect was not very different from the most part of the other mammals, calling attention, at first sight, the larger diameter of the erythrocytes, the almost absence of granulations in the nuetrophiles and the small evidence of granulations in cosmophiles.

DISCUSSION

There are scarce and isolated data about blood elements of the Myrme-copliagidae, but it was impossible to find a general hematologic picture. Gulliver (2) in an extense table of mean erythrocytic diameters from vertebrates, indicates for Myrmecophaga jubata (M.t. tridactyla) the value of 1/2769 inch (9.1734). He does not refer how many animals were used or the number of cells measured. However he informs that he measured a large number of erythrocytes in dry and thin smears. Peters (7) measuring 100 erythrocytes in a not specified number of animals found a mean diameter of 9.34 with a standard deviation of 0.67. Our data agree with those of these authors as we found a mean diameter of 9.3984 with a standard error of 0.322 (Table 1 and graphs 1, 2, and 3).

In respect to the mean corpuscular volume Knoll (4) found 133-135µ³ but has inferred the volume from the erythrocytic shape, considering the cell as a cylinder and using as elements only the diameter and the height. As the cell has not that geometric form we understand that his measures are very different from our findings, that were 160.7µ³. This value we found in 5 animals with methods utilised actually in hematologic routine, that is, considering the globular volume, hematocrit and the number of erythrocytes that occupy that volume. This method avoids errors introduced with individual measures of few elements.

Knoll refers in another work (3) that he found in Myrmccophagus tridactylus and in Tamandua jubata 4-8% of normoblasts in smears of the circulating blood. These results disagree with our findings. In 6 specimens of M. tridactyla tridactyla we found no normoblast in the smears of the peripheral

blood except rare ones in nr. 6227 and only 37 per mm³ in a specimen of T. tetradactyla that was in very bad conditions of health and died some hours after the blood was taken. We attribute that finding of Knoll to the possibility that he worked with animals that were not in good conditions and probably had anemia. The ontogenic inductions done by the author about the great number of normoblasts found in the animal circulation are therefore injustifiable. It is also possible that he confounded the small lymphocytes with erythroblasts, because these cells some times resemble erythroblasts (fig. 9, 10) although the difference does not present great difficulty (fig. 11). Knoll (3) refers that he studied one specimen of Myrmccophagus tridactylus and two Tamandua jubata, however, these two denominations are probably referent to a single species for Tamandua jubata, is probably Myrmccophaga jubata L., 1766, that is in the synonymy of Myrmccophaga tridactyla tridactyla L., 1758 (1-11).

About the percentages of leucocytes and their morphology Knoll (3) refers results found in 1 specimen of M. tridactyla and 2 of Tamandua jubata. Oria (5-6) presents results from 2 specimens of T. tetradactyla. There is no reference to the global count of leucocytes and differential count of neutrophiles. There is no divergence between these data and those found by us, because in so few animals it naturally occurs variations of the types of leucocytes and in respect to the morphology we only accentuate that the neutrophiles present very fine and little visible granulations and the eosinophiles have granulations not so individualized as in the man.

SUMMARY

Hematimetric data of 6 specimens of Myrmccophaga tridactyla tridactyla L., 1758 (Tamandua bandeira) and 1 specimen of Tamandua tetradactyla tetradactyla L., 1758 (Tamandua mirim) were studied. The mean values found were: 3.150.000 erythrocytes, per mm³, with a concentration of 43,12γγ of hemoglobin, a mean corpuscular volume of 160.6μ³ and a diameter of 9.398μ. The erythrocytes are discoidal and biconcaves and their dimensions are great when compared with these from other mammals. The number of reticulocytes was 0.747 % and that of leucocytes 4.980 per mm³. Differential counts of leucocytes were done. The neutrophiles presented very thin granulations, and these of the eosinophiles were not very evident, because they exist in a great number and become superposed.

RESUMO

Foram estudados dados hematimétricos de 6 exemplares de Myrmecophaga tridactyla tridactyla L., 1758 Tamanduá bandeira) e 1 do Tamandua tetradactyla tetradactyla L., 1758 (Tamanduá mirim). A média de hemácias foi de 3.150.000 por mm³ com uma concentração de 43,12γγ de hemoglobina, volume médio de 160,6μ³ e diâmetro médio de 9,398μ. As hemácias que são discóides e bicôncavas apresentam portanto dimensões grandes para mamíferos. O número de reticulocitos era de 0.747% e o de leucocitos 4.980 por mm³. Foram feitas contagens diferenciais dos leucocitos, os neutrofilos apresentavam granulações muito finas e as dos cosinofilos não eram muito evidentes por ficarem empilhadas devido ao seu elevado número.

We are indebt to Prof. Flavio da Fonseca who made available the animals, and for the results of parasitologic examinations done at the necroscopy.

BIBLIOGRAPHY

- Brehms, A. Brehms Tierleben. Die Säugetiere, 1 Band: 527, 1912. Bibliographisches Institut Leipzig und Wien, 1 Band, pp. 527, 1912.
- Gulliver, G. On the red corpuscles of the blood of vertebrata, and on the zoological import of the nucleus, with plans of their structure form and size (on
 a uniform scale) in many of the different orders, Proc. Zool. Soc. of London:
 91, 1862.
- Knoll, W. Das morphologische Blutbild der Säugetiere. I. Allgemeine und spezielle Morphologie der Kernhaltigen Blutzellen der Säugetiere, Jahrb. Morph. u. Mikrosk. Anat. Abt. II. Zeitschr. Mikrosk. Anat. Forsch. 30: 116, 1932.
- 4. Knoll, W. Untersuchungen über die Morphologie des Säugetierblutes, Folia Hacmatol. 47: 201, 1932.
- Oria, J. Sobre os monocitos do sangue circulante nos Xenarthra, Rev. Med. S. Paulo, 13: 19, 1928.
- Oria, J. Sobre os elementos figurados no sangue circulante na preguiça, no tatú
 e no tamanduá. Tese inaugural, Faculdade de Medicina da Universidade de
 S. Paulo, Brasil, 1928.
- Peters, N. Das morphologische Blutbild der Säugetiere. H. Über die Grössenverhältnisse der Erythrocyten der Säugetiere, in Jahrb. f. Morph. u. Mikrosk, Anat. Abt. II. Zeitschr. Mikrosk. Anat. Forsch. 30: 151, 1932.
- Rosenfeld, G. Corante pancrômico para hematologia e citologia clinica. Nova combinação dos componentes do May-Grünwald e do Giensa num só corante de emprego rápido, Mem. Inst. Butantan, 20: 329, 1947.
- Szihla, A.; Bowman, H. & Pearson, R. Prolongation of blood clotting time in the dormant hamster, Science, 115: 272, 1952.
- Stihla, A.; Bowman, H. & Ritenour, R. Prolongation of clotting time in dormant estivating mammals, Science, 114: 298, 1951.
- Trouessart, E. L. Catalogus Mammalium tam viventium quam fossilium, R.Friedländer & Solm, Berolini, Suppl. pp. 803, 1898-1905.

Table 1

Myrmecophaga tridactyla tridactyla 1... 1758

				000000000000000000000000000000000000000	CELLO			
Animal Nr.	qed bloxi cells x 10s/mm³	Hemoglobín gr %	Mean corpuscu- lar hemoglobin \(\gamma \gam	Hematocri:	Mean corpuseur- lar volume	Reticulocytes	Mean diameter	Red blood cells sedimentation rate mm/60min.
6227	3,3	7.8	23,6	52,2	158	0.675	0 576	
6226	3,4	16.7	49,0	55,5	162	0.657	0506	S C C
6225	3,2	13,1	41,0	46,0	143	1	9,393	Cmin C
6245	2.7	15,0	55,5	50.5	187	0,778	9,707	20,0
6245.1	1	1	To a	2 6	1	1	9.221	511/3
6275	1	1	E	1	1	i	9.836	1
6265	3,0	13,9	+6,5	16,0	153	0,879	9,004	29,0
Mean	3,15	13,28	43,12	50,04	160,6	0,747	9,398	17,28
WE.	0,28	3,33	12.09	4 10	16.37			
ಕ್ಟ್ 1	50°50	25.0	28.0	8.2	10,12	0,1014	0,323	11,78
3-q 101 - B	0,124	1,43	, to	1.83	7,32	0,05	0,130	20.00
Cr. S.	3,9	This is a second of the second	12.5	3.6	*5.5	6.7	10,0	30,44
				_				

 $_{
m cm}$ $_{
m 1}$ $_{
m 2}$ $_{
m 3}$ $_{
m 4}$ $_{
m 5}$ $_{
m 6}$ $_{
m 7}SciELO_{
m 0}$ $_{
m 11}$ $_{
m 12}$ $_{
m 13}$ $_{
m 14}$ $_{
m 15}$ $_{
m 16}$

Table 2

Myrmecophaga tridactyla tridactyla L., 1758

Leucocytes

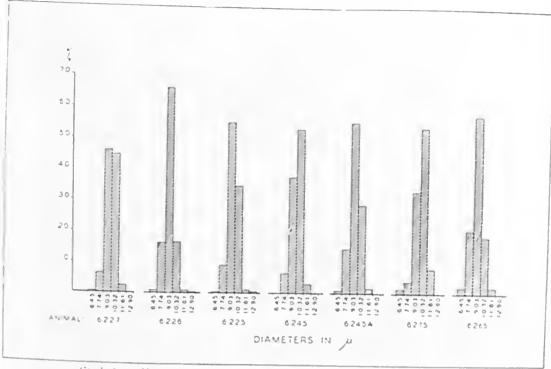
_				Differential count	200						
-		Neutr	Neutrophiles								
x N. N. x	Lencoytes 104/mm3	Sed	Segmented	Essinophiles Hasophiles	Hasophiles	Lymphocytes	Moneytes	l'recelence	Diederes or in Iretations		Observations
	6,25	13	33	19		22	77	Mato Groupo	Mato Grosso Nematodes (sto-	Indet.	1
9229	2,40	11	90 70	9	i	7	6	Mate Greeze	Mato Grosso phala (interline).	0+	1
	4,83	91	43		-	30	6	Mato Grovo		0+	
6245	2,13	23	**	17	Ī	123	÷	Mato Grosso		0-	Animal was suck-
6245 A	4	21	20		1	51	4~	Mato Grugio	Bernath - M	-	Voundat of the
6275	1	F7)	12	*		12	v	Mato Grosso	1	Irelet.	animal above
	4, 2, 5, 5, 5, 5, 5, 5, 5, 5, 5, 5, 5, 5, 5,	6	(9)	¢1	1		77	S. S. Paulo		Inlet.	
-	4.98	60	36,83	55.8	0,57	29.57	5,0				
* * * * * * * * * * * * * * * * * * *	1,947 3.7 0,870 17,4	8,26 42,6 3,12 16,9	16,5 44,7 6,24 16,9	7,89 92,0 2,98 34,3	1.13	12,10	E 200				

cm 1 2 3 4 5 6 SciELO_{0 11 12 13 14 15 16}

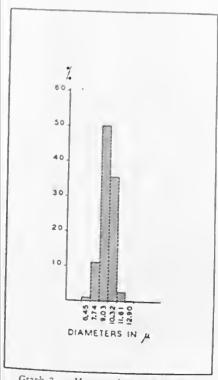
Tamandna tetradaciyla tetradaciyla L., 1758, Procedence Mato Grosso, sex indetermined, died TABLE 3

			RED 1	RED BLOOD CELLS				
Red blood cells 104mm?	Hemoglobin Rr. %	Mean corpuse, hemoglobin YY	Hematucrit %	Mean corpuse, volume 113	Reticulocytes	Reticulacytes Mean diameter	Red blood cells sedimentation rate	1
								_
00	end end tud	+0,3	37,0	5.5.5	0,167	8,9.17	\$6.06	

			Hollin Lagra		23	SA CLYTHEOGRAM MINES
			Monocytes		"	
TES	5		Essinophiles Basophiles Lymphocytes		39	
LEUCOCYTES	Differential count &		Basophiles		1	-
	Different				2	
		Newrophiles	Stab Segmented	۵		
	j	Net	J Stab	1 23		
		Leucocytes x 10°/mm.3		3,7		

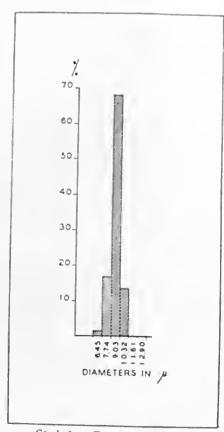


Graph I -- Myrmecophaga t. tridactyla. Mean erythrocyte diameter of 6 animals.



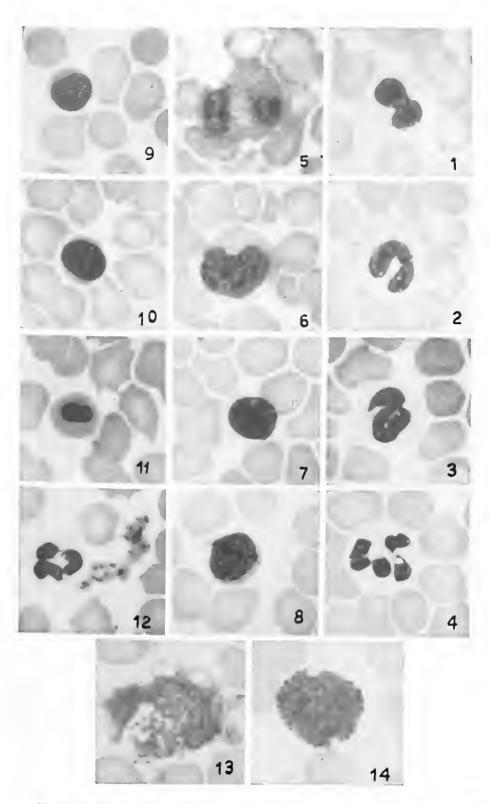
Graph 2 - Myrmecophaga t. tridetyla.

Mean erythrocyte diameter. Average of
6 animals.



Graph 3 — Tomondus t. tetrodactyla, Mean erythrecyte diameter. 1 animal.





Photomicrographs of blood of Myrmecephaga tridactyla L., 1758. Rosenfeld stain, N 1 2 sta I — Neutrophile, juveni'e; 2 — Neutrophile stab form; 3 — Neutrophile stab form; 4 — Nutrophile, regnizented; 5 — Ecsinophile; 6 — Memocyte; 7 — Large hymphocyte; 8 — Small hymphocyte; 9 — Small hymphocyte; 10 — Small hymphocyte; 11 — Erythroblast, orthocromatic; 12 — Platelets; 13 — Eosinophile, smashed; 14 — Bassphile.



ESCORPIŌES E ESCORPIONISMO NO BRASIL

1. Manutenção dos escortiões em viveiros e extração do veneno

WOLFGANG BUCHERL

(Laboratório de Animais Peçonhentos, Instituto Butantan, S. Paulo, Brasil)

INTRODUÇÃO

Há mais de trinta anos fabrica o Instituto Butantan um "sôro anti-escorpiónico", obtido nos primeiros anos apenas com a peçonha de Tityus bahiensis e, mais tarde, pela mistura, em partes aproximadamente iguais, dos venenos de Tityus bahiensis e T. serrulatus.

Entre todos os escorpiões do Brasil são estas duas espécies as mais peçonhentas. Existem dados documentados que atestam a enérgica ação da peçonha de *T. bahiensis* e *T. serrulatus*, havendo mesmo casos de morte humana, não sómente de crianças mas também de pessoas adultas, determinada pela picada de uma das duas espécies.

Nestas circunstâncias veio o fabrico do antidoto específico pelo Instituto Butantan preencher uma necessidade clínica. Para a obtenção da peçonha escorpiónica separa-se do escorpião vivo ou recem-morto o telson ou último artículo caudal. Um lote dêstes artículos é triturado em gral de vidro para redação a um macerado, o mais miúdo possível Ajunta-se, então, salina na proporção de 1 cm³ para cada 10 artículos. Agita-se a mistura com bastão de vidro, para extração do princípio tóxico e passa-se, em seguida, à centrifugação. O líquido sobrenadante, fortemente opalescente, contêm a peçonha escorpiónica. Adiciona-se glicerina neutra em proporções tais que o líquido venenifero perfaça dois terços e a glicerina um terço. Incuba-se a 37º C, pelo menos durante 15 dias, "para esterilização da mistura e concentração do antigeno...", como disse Vital Brazil Mem. Inst. Butantan 1: 48, 1918.

Para aferição do indice tóxico toma-se a relação do número de glândulas contidas em cada cm³ desta solução glicero-aquosa. A titulação é feita por injeções subcutâneas em cobaios de 400 gramas.

Com a mesma solução imunizam-se cavalos, tendo Vital Brazil principiado com injeções subcutâneas de 0,6 glândulas de T. bahiensis (loc. cit.). Num

Recebido para publicação em 5 de junho de 1953.

periodo de 2 mêses e 4 dias, praticando-se uma injeção em média cada 4.º dia e subindo-se cada vez com a dose, chegando-se a inocular num cavalo nada menos de 1.512,8 glándulas.

O sôro obtido após sangria do cavalo era titulado em tubos de ensaio 1 cm³ de sôro em cada tubo, mais uma quantidade variável de peçonha escorpiônica, com incubação dos tubos em estufa a 37°C, durante 1 hora e posterior inoculação do conteúdo de cada tubo, por via subcutânea, em cobaios de 400 gramas.

Nesta titulação o sóro obtido revelava-se fraco, neutralizando apenas 4 glândulas por cm³. Após concentração do mesmo, obtinha-se um poder neutralizante de 10 glândulas escorpiônicas por cm³, o que foi julgado satisfatório por Vital Brazil, principalmente após recomendação de que, em caso de acidente humano, se injetassem por via subcutânea ou intramuscular 5 a 20 cm³ deste sóro.

Em anos posteriores passou o Instituto Butantan a fabricar o sôro anti-eseorpiônico polivalente, capaz de neutralizar a peçonha das duas espécies, T. bahiensis e T. serrulatus.

Este soro é apresentado em ampôlas de 5 cm³, capazes de neutralizarem 5 D. l. m. da mistura glicero-aquosa dos venenos das respectivas espécies.

Jà Vital Brazil e depois seus sucessores que fabricavam este soro, estavam conscios das inconveniências dêste método. Sabiam eles perfeitamente que:

- a) a relação do número de glândulas em determinado volume de liquido glicero-aquoso, podia não corresponder à realidade pela ocorrência de glândulas sem peçonha;
- b) a trituração em gral de vidro do telson inteiro e extração com salina fazia entrar em solução substâncias hidro-solúveis estranhas (dos elementos quitinosos das coberturas do telson, dos teixes musculares, dos epitélios glandulares, etc.), que, sendo de natureza protéica, faziam também o papel de verdadeiros antígenos na imunização dos cavalos, a encobrir imunológicamente a verdadeira imunização com a peçonha. Lógicamente os anticorpos do cavalo constavam também, em grande parte, de anticorpos estranhos, etc..;
- c) o processo de os fornecedores enviarem as glândulas escorpiônicas já dentro da glicerina deu, muitas vezes, origem a remessas de glândulas em adiantado estado de deterioração, com mau cheiro, etc.. com alteração da atividade da peçonha:
- d) nenhuma titulagem, tanto da solução venenífera, como do sôro obtido, podia, a rigor, ser reproduzida experimentalmente, porque a unidade-cobaio tinha que ser titulada, em cada partida, com antígeno cada vez diferente.

Destes conhecimentos nasceu a tendência, ensaiada em quase todos os centros de pesquisa que se dedicam à soroterapia anti-escorpiônica. de manterem-se os escorpiões vivos e de extrair-se deles a peçonha em estado mais ou

menos puro a permitir dosagens mais rigorosas, tanto na titulagem da peçonha, como na imunização de cavalos e redosagem dos sóros obtidos.

Entre nos cabe ao dr. Heitor Maurano o mérito de ter sido o primeiro a obter veneno puro de *Tityns bahiensis*, colhido diretamente do ferrão com pipeta capilar e soprado sobre um vidro de relógio, sêco em seguida na estufa.

Vital Brazil, em 1918, embora reconhecendo ser este método muito trabalhoso, achou, contudo, que o mesmo deverá ser aplicado nas experiências de precisão e que se deveria tentar, pelo menos, obter veneno puro para a tunlagem dos soros.

HABITAT

O Tityus serrulatus (iotografia N.º 1) pode ser considerado um escorpião essencialmente domiciliar. É encontrado quase sempre dentro de cidades, vilas e construções humanas, penetrando todos os cómodos das habitações. É raro no campo.

O Tityns bahiensis, (fotografia n.º 2), ao contrário, é um escorpião dos campos, das plantações, dos cerrados e das matas ralas. Seu esconderijo predileto são as cavernas naturais dos barrancos, os buracos cavados por outros animais e os cupins, em cuja parte inferior se instala definitivamente. Quando a ocasião for propícia, ele penetra também em cidades, ainda que sempre em número menor do que o T. serrulatus e instala-se igualmente dentro das moradias humanas.

O Tityus serrulatus (fotografias 3-6) existe nos Estados de Minas Gerais, São Paulo, Rio de Janeiro e Goiás, principalmente. Sua zona biólogica abrange a região limitrofe entre os Estados de São Paulo e Minas. Em São Paulo existe este escorpião desde Barretos, Pontal, Ribeirão Preto, Mogi Mirim, Amparo, Socorro até as cidades novamente limitrofes com Minas, Roseira, Aparecida, Guaratinguetá, Lorena, Cachoeira, etc., smpre ladeando a fronteira com Minas, com uma penetração entre 30 a 70 quilômetros no Estado.

Em Minas Gerais existe em Cabo Verde, Parreiras, Ouro Fino, Cambui Itajubá. Porto Farias, Juiz de Fóra e principalmente Belo Horizonte. Tem-se mesmo a impressão de que sua presença, aliás numéricamente muito elevada, em Belo Horizonte, é isolada, pois em redor desta cidade ocorre o T. bahiensis.

No Estado do Rio de Janeiro encontra-se o *T. serrulatus* ao longo da Serra da Mantiqueira, do lado oriental, no percurso da Estrada de Ferro Central do Brasil, como Lavrinhas, Queluz e Rezende.

O Tityns bahiensis tem uma distribuição geográfica muito mais ampla, desde o Estado da Bahia, na margem direita do rio São Francisco até ao Oceano Atlântico em direção sudoeste pelos Estados de Minas Gerais (Ouro Preto, Passagem de Mariana, Sabará, Belo Horizonte, etc.), Espirito Santo, Rio de Janeiro, inclusive o Distrito Federal e Niteroi.

 $_{
m cm}$ $_{
m 1}$ $_{
m 2}$ $_{
m 3}$ $_{
m 4}$ $_{
m 5}$ $_{
m 6}$ $_{
m 7}SciELO$ $_{
m 11}$ $_{
m 12}$ $_{
m 13}$ $_{
m 14}$ $_{
m 15}$ $_{
m 16}$ $_{
m 17}$

No Estado de São Paulo é esta espécie encontrada em quase todas as regiões. Embora prefira a vida do campo, habita também muitas cidades, ou porque foi trazido para elas (pelas Estradas de Ferro, pelas encomendas, por estrada de rodagem, com madeiras, tijolos, pedras, areias, etc.), ou ainda porque a cidade veio até ele, isto é, as moradias humanas foram construidas em zonas onde era campo antes.

O Instituto Butantan tem recebido *Tityus bahiensis* das seguintes cidades: Guaratinguetá, Aparecida, Roseira, Pindamonhangaba, Taubaté, Caçapava, Mogí da Cruzes, Santo Augelo, todas localidades servidas pela Central do Brasil. Foi enviado igualmente da ilha de São Sebastião e de Santos.

Na Capital de São Paulo é este escorpião bastante frequente nas encostas entre Perdizes e Pacaembú, como também entre o Sumaré e o Pacaembuzinho de um lado e Sumaré e Vila Madalena do outro.

Foi encontrado igualmente em quase todas as ruas paralelas à avenida Paulista, do lado oeste, como Alameda Lorena, Tietê, etc. Existe também nos seguintes bairros: Luz, Casa Verde, Sant'Ana, Penha, Jardim Paulista, Pinheiros, Lapa e Vila Pompeia.

Inspeções dêstes locais revelavam sempre a existência ou de terrenos baldios, com acumulação de detritos, pedras, tijolos, madeiras, etc.. ou de muros não rebocados, cheios de fendas profundas entre os tijolos ou de cêrcas improvisadas com mourões esburacados ou ainda, como acontece no Pacaembú, altos muros de apoio, feitos de pedras naturais, cujas juntas não foram fechadas. Prédios velhos .cheios de rachas e defeitos, com porões esburacados, são igualmente um esconderijo ideal para êste escorpião.

Para se ter uma ideia do vasto habitat desta espécie no Estado de São Paulo, citamos mais algumas cidades, das quais o Instituto Butantan já tem recebido o *Tityus bahiensis*: Ribeirão Pires, Santo André, São Bernardo, na Estrada de Ferro Santos-São Paulo; Caieiras, Jundiaí, Campinas, Rio Claro, Graúna, Visc. do Rio Claro, São Carlos, Dobrada, Monte Alto, Viradouro, Pontal, Ribeirão Preto, São Simão, Luiz Antonio, Mocóca, Itobí, Araras, Mogí Mirim, Itapira, Socorro, Amparo, Pedreira, Atibaia e Guarulhos todas cidades localizadas à direita de uma linha reta, traçada entre Santos e Rio Preto.

À esquerda desta linha, na zona servida pela Sorocabana temos as seguintes localidades: Baruerí, Sorocaba, Itú, Salto, Tietê, Piracicaba e João Alfredo, São Pedro, Botucatú, Rubião Jr., Avaré, Itapéva, Nogueira, Cafelándia, Rancharia, Capivarí, Rib. dos Indios e Presidente Epitácio.

MANUTENÇÃO DE ESCORPIÕES EM VIVEIROS:

As duas espécies de escorpiões, Tityus serrulatus e Tityus bahiensis, podem ser mantidas em viveiros com relativa facilidade.

O viveiro ideal é de madeira, de forma retangular ou quadrada, com fundo de madeira compensado, paredes laterais de madeira ou vidro ou tela fina e tampa superior de tela. Para trezentos escorpiões recomenda-se uma área de pelo menos 60 por 60 cm (comprimento e largura).

O interior dos viveiros deve ser provido de esconderijos, porque os escorpiões preferem o escuro. A maneira mais fácil de instalar-se estes esconderijos consiste em dobrar-se cartolina preta nas medidas de 20 por 20 cm e com 3 cm de altura, com entrada larga num lado.

Em cada viveiro colocam-se 3-5 déstes esconderijos. A agua potável é tornecida aos escorpiões em placas de Petri.

Embora fossem os escorpiões capazes de jejuar prolongadamente, mais ou menos uns dois meses, começam éles, contudo, quando falta comida, a agredir-se mutuamente, servindo-se éles próprios de repasto. Por este motivo é indispensável, quando se quer manter juntos muitos dêstes aracnideos cambais, que exista sempre comida em grande abundância. Embora éles aceitem qualquer pequeno inseto, detestando apenas himenópteros, que rejeitam categóricamente, teem éles, contudo, grande preferência pelas aranhas, particularmente pelos Licosoídeos (fotografia N.º 7).

As aranhas caranguejeiras são igualmente aceitas com grande apetite, sendo então o melhor expediente, para evitarem-se brigas iratricidas, picarem-se as aranhas em pedacinhos pequenos, de maneira que cada escorpião possa apoderar-se, pelo menos, de um pedacinho.

Pouca comida para muitos escorpiões incita-os à briga. Dois a quatro agarram a prêsa e a puxam cada um para si. Com os ferrões êles procuram afugentar os outros e como resultado surge uma grande mortandade, sendo os mortos devorados também pelos sobreviventes.

O expediente prático para conseguir-se que os escorpiões aceitem facilmente o alimento consiste em colocar o mesmo sóbre um pedaço de cartolina e enfiá-la por baixo dos esconderijos dentro dos viveiros. Como êles costumam passar o dia justamente por baixo dêstes, estão assim diretamente em contato com a comida, que devoram sem tardança.

Escorpiões sempre bem alimentados são a melhor garantia contra o canibalismo, sendo, pois, perfeitamente possivel, manter centenas juntos, sem a verificação do fratricídio.

A questão muda de figura nos mêses de Dezembro a Abril, periodo em que as feineas dão à luz aos filhotes, às vezes em número superior a 20.

Nenhum destes filhotes, quando não se retirar a mãe dos viveiros, conseguirá crescer, pois os outros escorpiões, sem cerimônia alguma, costumam colocar-se ao lado da mãe, sobre cujo dorso repousam os recêm-nascidos, e com as mãos agarram um por um dos pequeninos, para comê-los. A própria mãe não faz oposição alguma.

Foram vistas repetidas vêzes diversas fêmeas, às vêzes em número de três, com as costas cheias de filhotes. Como si tivesse havido prévio entendimento mútuo, dispõem-se uma em frente às outras, repassando, óra a mão de uma, ora de outra, sóbre o dorso da companheira, para a retirada de um filhote. O repasto sinistro só tem fim depois do desaparecimento do último recém-nascido.

As cutículas quitinosas que sobram após a muda de pele são igualmente devoradas. Como a ecdise é invariavelmente realizada durante a noite, só se chega a saber do fato pelo aspecto diferente do tegumento do escorpião. Entre várias centenas de individuos, só conseguimos ver umas 2-3 ecdises em vários anos de observação, exceptuando-se os filhotes, criados á parte e que trocam a pele com mais frequência.

Um dos assuntos mais importantes na manutenção de escorpiões em viveiros é naturalmente a *limpeza*. As fezes aderem firmemente ao madeiramento e sempre permanecem restos de alimento, mesmo quando se têm retirado os mesmos cada segundo dia, para evitarem-se maus cheiros.

É necessário, pois, que se recolham todos os escorpiões em grandes placas de vidro, empregando-se pinças compridas e que se proceda cada semana a uma limpeza geral, feita com água e sabão. Esfregam-se todos os cantos, as telas e os vidros; trocam-se, em seguida, os papeis e os esconderijos, substituindo-os por novos, etc. Depois recolocam-se os escorpiões nos viveiros limpos.

Nos meses de frio convêm aquecer levemente a sala.

Para facilitar o alimento, pode-se ralar finamente carne, ás vêzes também figado. Periòdicamente é interessante misturar-se ao alimento levedo em pó, em proporção infima.

Com estes cuidados é perfeitamente possível manter-se em laboratórios os escorpiões das duas espécies referidas. A percentagem de mortalidade é relativamente baixa, variando entre 0,3-0,6% diàriamente. É imprescindivel inspecionar diàriamente os viveiros, trocar a água potável e retirar os mortos, mesmo porque a presença de cadáveres, além de prejudicar os vivos, os incita ao canibalismo.

- .13 -

cm

Recebimento de escorpiões pelo Instituto Butantan: Tem o Instituto feito diversos apelos, desde os anos de 1951, para que os fornecedores enviassem os escorpiões vivos. Entre as pessõas que mais atenderam a estes apêlos, tornando-se, por isso, merecedores dos agradecimentos dêste centro de pesquisa, devem ser citados o Dr. Ovidio Unti, chefe do Serviço de Profilaxia da Malária, o dr. Heitor Chiarello, chefe do Pronto Socorro Municipal de Ribeirão Preto, o dr. Tito Lopes da Silva. do Serviço da Profilaxia da Malária, os médicos veterinários da Estação Experimental de Pindamonhangaba, a Prefeitura de Pontal, o sr Wagner, de Passagem de Mariana e a Prefeitura de Ouro Preto.

De todos estes recebe o Instituto periòdicamente remessas de escorpiões vivos. Os de Ribeirão Preto vieram durante o ano de 1951 com sinais evidentes de intoxicação por Gammexáne, de maneira que, nos primeiros dias, a percentagem de morte foi muito elevada; outras remessas chegavam já com os escorpiões mortos.

Aliás, da grande maioria dos intoxicados, muitos reviveram e se restabeleceram completamente.

1. TABELA DE ENTRADA DOS ESCORPIÕES VIVOS

Meses	1	11	111	117	Λ.	VI	VII	VIII	12	Z.	ZI	XII	Total
ano de 1951			1								1		
T. serrulatus	57	37	64	151	39	22	II	56	16	95	119	101	519
T. vakiensis	12	26	19	655	252	13	4	36	42	18	33	58	1201
ano de 1952	1		1										
T. serrulatus	1 4	35	13	40	26	17	47	79	45	65	51	23	505
T. basiensis	21	12	141	66	29	60	37	51	57	45	59	9	566
ano de 1953					1								
T. serrulatus	10	10	57										77
T. tahiensis			35	1220									1269

Embora tivesse sido recomendado minuciosamente que os fornecedores acondicionassem os escorpiões com cascas de árvore umedecidas, e estes obedecessem rigorosamente, continúa, contudo, a percentagem de mortalidade, durante o trajeto para o Instituto, bastante elevada: em tôrno de 30%.

Nas primeiras duas semanas de acomodação aos viveiros e de recuperação da vitalidade há ainda a assinalar uma percentagem relativamente alta de mortalidade, entre 8 a 10% do total.

Extração do veneno:

I. Método de captura dos escorpiões para extração: Para que se possa extrair o veneno, em estado puro, sem prejudicar sériamente o escorpião e com relativa segurança para o extrator, temos encontrado o seguinte método, que, após dois anos e meio de trabalho, consideramos o mais vantajoso e prático (Fotografia N.º 8).

Recolhem-se dos viveiros os escorpiões da mesma espécie, em lotes de 100 cada vez, e se coloca em grandes placas de vidro, cujos bordos têm pelo menos 12 a 15 cm de altura. Com pinça levemente denteada e com ponta recurva pega-se, então, um escorpião. A posição dêste deve corresponder ao ângulo de flexão da ponta da pinça, de maneira tal que uma haste da mesma venha

a cair exatamente sobre o lado dorsal do fini do penúltimo artículo caudal e a haste ventral no lado ventral do mesmo artículo. Levanta-se, então, o escorpião com a mão direita (a mão da pinça) e introduz-se o polegar e o indicador da mão esquerda sobre a cauda — o polegar sobre o lado dorsal e o indicador sobre o lado ventral da mesma. Com movimento rápido deixam-se escorrer os dois dedos em direção á pinça, isto é, ao penúltimo artículo, segurando-se, em seguida, firmemente justamente na dobradura da vesícula (ou telson). Este ato deve ser feito de modo que a unha do polegar repouse diretamente sobre o lado superior e a falangeta do indicador no lado oposto.

Como o escorpião não pode dobrar o telson para baixo, não há perigo algum de uma eventual picada na falangeta do indicador. O ferrão entretanto, è dobrado para cima com incrível rapidez e a picada seria infalível, si não a protegesse, a unha do polegar, impenetrável para o ferrão escorpiônico. Por êste mesmo motivo deve-se curvar bem o polegar sobre a cauda, de maneira que entre o artículo caudal e a unha não haja espaço além de um milimetro, sob pena de o escorpião, ao dobrar o telson para cima, atingir o polegar justamente debaixo da unha e encravar aí o ferrão.

Estando os dois dedos nesta posição, que, após algum exercício, é adotada automàticamente, pode-se retirar de todo a pinça. Naturalmente forceja o aracnídeo atitudes de defesa, dobrando, por diversas vêzes o ferrão para cima. A cada movimento surgem, perto da ponta do ferrão, os dois opérculos, onde terminam os canais eferentes, uma a duas pequenas gotículas de veneno, recolhidas num pequeno vidro de relógio.

Durante a extração repousa o escorpião na palma da mão, levemente seguro com os restantes três dedos. Ele não fica de todo inativo, mas procura agarrar a pele do extrator. Energicamente êle fecha suas pinças e belisca assim os dedos e as dobras da palma da mão (Fotografia N.º 9).

Terminada a extração do veneno, segura-se novamente o telson com a pinça e soltam-se os dois dedos, repondo-se o escorpião numa placa de vidro, de bordos altos.

Para treinamento de noviços nesta tareia perigosa, recomendo que se tomem 5-10 escorpiões e se cortem com tesoura os ferrões pela metade, de maneira que não haja mais ponta. Assim os escorpiões podem ser tomados na mão e mesmo que procurem encravar os ferrões, êstes não mais podem penetrar na pele humana. Como de resto o comportamento do escorpião continúa em tudo igual aos incólumes, constitúi isto um método prático de iniciação.

Tendo adquirido prática, é possivel extrair-se o veneno de 100 escorpiões em i hora, mais ou menos.

Terminada esta, voltam os escorpiões para seus viveiros, onde continuam a alimentar-se incontinente, podendo ser reaproveitados, após um determinado periodo de tempo, para nova extração do veneno, e assim por diante.

2. Extração manual do veneno: Preparativos: Embora tivessemos ensaiado diversos procedimentos para uma eficiente coleta do veneno (pipetas capilares, tubos capilares, etc.), adotamos finalmente o seguinte: Um pequeno vidro de relógio é bem limpo, séco e exatamente tarado em balança ultra-sensível. Este vidrinho é guardado dentro de uma Placa Petri. No momento do uso, é novamente bem limpo e séco, sendo manejado apenas com pinça. Na extração do veneno este vidrinho é colocado por cima na placa de Petri e, sem se tocar nunca nele com a mão, depositam-se sucessivamente as gotículas de veneno.

Processo de obtenção do veneno: — Quando se prende o escorpião com a pinça, ele procura picar na mesma, surgindo então uma ou duas pequenas gotículas de veneno perto da ponta do ferrão. Ao tomar-se o aracnideo entre os dedos, executa êle mais movimentos rápidos de flexão do ferrão, pelo que surge nova quantidade de veneno.

Quando já não aparece mais peçonha, vira-se levemente e com cuidado o escorpião para o lado e faz-se delicada pressão sobre o local das duas glândulas.

Em geral aparece, então, mais um pouco de veneno, que será reunido ao outro na plaquinha de vidro.

Embora se trate apenas de frações de miligramas por unidade escorpiónica, deve-se, contudo, acentuar que há variações muito grandes. 5-8% de escorpiões não fornecem veneno algum. As vêzes estão entupidos os poros eferentes dos canais veneniferos. Podem ser desentupidos, roçando-se de leve pelos mesmos com a ponta da pinça. Mas mesmo após esta operação há escorpiões que não fornecem veneno; outros dão apenas uma goticula; outros fornecem fâcilmente 3 goticulas e de outros ainda jorra o veneno em fino esguicho, projetado para longe.

Em dois anos e meio de serviço com dezenas de extrações em vários milhares de indivíduos, chegamos à conclusão de que a variação indivídual na quantidade de veneno, ainda que sempre da ordem apenas de miligramas, fica, mais ou menos, como a relação de 1:10, isto é, há escorpiões que dão 10 vezes mais veneno do que outros.

Na avaliação de estatisticas sóbre obtenção de veneno escorpiónico, já publicadas ou a serem publicadas, dever-se-á tomar este fato em conta.

3. Extração da reçonha por choque elétrico: Pela união de 4 pilhas do tipo das usadas em holofotes de mão, é perfeitamente possível instalar-se um

pequeno aparelho elétrico com intensidade de choque correspondendo a 6-7 Volt apenas (fotografia N.º 10).

Esta corrente é suficiente para determinar a expulsão do veneno escorpiônico, sem prejudicar o aracnídeo.

Preso o escorpião entre os dois dedos, encosta-se a base do telson nos dois pólos, o positivo e negativo, separados apenas I milímetro um do outro. Dá-se, então, um choque rápido-o que faz nascer o veneno, recolhido no vidro de relógio. Repete-se o curto choque umas três vêzes ou até que não apareça mais peçonha.

Pelo método do choque elétrico obtêm-se maior rendimento de veneno, embora também se verificassem as mesmas variações quantitativas individuais como na extração manual.

Em geral, porém, ao primeiro choque surge um fino jato de veneno cristalino, seguido depois, em cada percussão, por gotículas cada vez mais turvas e de aspecto leitoso.

Mesmo no choque elétrico há uns 3% de escorpiões que não fornecem veneno algum.

Querendo, para fins de estudo, obter apenas veneno do aspecto limpido, puro, transparente, então não se pode recomendar o método do choque, mas apenas o manual.

Em nosso serviço adotamos simultâneamente os dois métodos-o manual para obtenção da peçonha "hialina", transparente, e o elétrico para esgotamento da reserva peçonhenta.

Infelizmente nem sempre é possível separar categóricamente estas duas frações, a hialina e a leitosa, pois, como se pode imaginar fácilmente, há naturalmente tôda a transição.

Na prática esta separação também não tem maior valor, pois ambos os tipos formam afinal o "veneno escorpiónico".

- 4. pH do veneno: Durante o ano de 1952 temos verificado cada mês o pH dos venenos líquidos, nascentes. O de Tityus serrulatus varia entre 6,2 e 6,9 e o de Tityus bahiensis entre 6, 4 e 7.
- 5. Aspecto macroscópico do veneno: Tanto o veneno de Tityus serrulatus como o de T. bahiensis tem o mesmo aspecto. A primeira gôta é geralmente transparente, límpida, semelhante à uma gotícula de orvalho. As gôtas seguintes são mais turvas, espessas. As últimas gotículas são leitosas, consistentes.

Em geral, tendo em vista uma grande quantidade de escorpiões das duas espécies, deve-se concluir que o *T. serrulatus* tem menos veneno "hialino", transparente, aparecendo já as primeiras gotículas um tanto turvas, enquanto que em *T. bahiensis* pode-se retirar quase sempre uma gota "hialina", seguida por outras, cada vez mais leitosas e espessas.

- 6. Solubilidade do veneno: O veneno hialino de ambas as espécies se dissolve muito fàcilmente em água destilada ou salina. Quanto mais leitoso for o aspecto do veneno, menos êle se dissolve em água ou salina, tendo as soluções aspecto opalescente, com grumos e flocos indissolúveis.
- 7. Aspecto microscópico do veneno: O veneno "hialino" de ambas as espécies, quando sêco sóbre uma lámina ou quando em esfregaço, apresenta uma configuração que lembra muito a cristais (compare as fotografias). A natureza destas configurações "cristaloides" (?) não está ainda elucidada.

O veneno "leitoso" ao contrário apresenta aspecto amorio, não se podendo encontrar diferenças microscópicas entre o das duas espécies.

8. Quantidade de veneno liquido e sêco: Terminada a extração dos lotes de escorpiões, é novamente pesado o vidro de relógio, para determinação do veneno liquido.

2. Tityus serrulatus

Data	N.o escorpsão	mg. veneno liquido	mg. veneno	o veneno seco veneno liquido	mg. veneno seco por escorpião
7/1/52	170	0,0766	14,0	18.3	0.03
28/1/52	124	0,0166	3,5	21.0	0.028
12/3/52	116	0,0129	3,7	28.5	0.032
24/3/52	130	0.0338	8.7	22.7	0.067
8/4/32	124	0.0220	5,0	22,7	0.032
24/4/52	108	0.0346	6.8	19,7	0,063
8/5/52	111	0.0130	4,0	30.7	0.032
23/5/52	105	0,0252	8.4	33.3	0,080
6/6/32	100	0.0320	1,8	24.8	0,081
20 6/52	90	0.0188	4.7	25.0	0.052
7/7/52	80	0.0094	2,6	27.6	0,032
22/7/52	85	0.0114	3,1	27,1	0.036
7/8/52	85	0,0128	3.2	25,0	0.037
22 8/52	120	0,0242	5,8	24.0	0.045
9 9 53	113	0.0171	5.7	33.5	0.045
24/9/32	130	0,0212	6.7	31.6	0,059
9/10/52	159	0,0412	10,3	25.0	0.00%
23/10/52	144	0.0338	8.2	24.2	0.057
6 11/52	164	0,0424	10,1	23,8	0,061
20/11/52	177 1	0.0241	6,5	27.0	0.035
10 12 52	155	0,0360	9.0	25.0	0.059
26/12/52	121	0,0298	7.7	25.9	0.063
Totais:-	2.716	0,3559	145,8		
Médas:-	1	0.20mg		25 a 25, 7%	0.052

Em seguida seca-se a peçonha na mesma placa, em vácuo, sôbre cloreto de cálcio. O veneno sêco é novamente pesado dentro do vidro de relógio. Retira-se, então, o veneno sêco e faz-se uma terceira pesagem do mesmo (para contrôle da exatidão da segunda) e depois guarda-se a peçonha sêca sobre cloreto de cálcio, no dessecador, envolto em papel escuro.

 Tityus serrulatus (extração manual)

Data	N.o escorpião	mg. veneno liquido	mg. veneno	o veneno seco veneno liquido	mg. venene sêco por escorpião
13/1/53	173	0,0410	12,0	29.2	0.069
30/1/53	165	0.0322	8.3	25,0	0,00
12/2/53	141	0.0160	4.0	25,0	0.029
13 3/53	121	0,0240	6,0	25.0	0.050
27/3/53	129	0,0256	6,4	25,0	0.050
11/4/53	195	0,0470	12,0	25,5	0.060
2/5/53	155	0,0350	9,0	25,7	0,058
Totais	1.078	0,2208	57.7		
Médias)	0,20		0,090	0,053

4. Tityus serrulatus (Extração por choque elétrico)

Data	N.o escorpião	mg veneno liquido	mg. veneno sêco	% veneno séco veneno líquido	mg. veneno seco por escorpião
2/5/53 16/5/53	155 157	0,135 0,114	54.0 51,6	40,0 45,0	0,349 0,320
Totais	3 12	0,249	105,6		
Médias	W.	1,0.0,8		42,4	0,338

Por percussão elétrica pode obter-se uma quantidade de veneno espesso, de aspecto leitoso, bem maior do que por simples extração "manual".

A percussão elétrica parece esgotar realmente as duas glândulas veneníteras. O veneno é viscoso, muito menos líquido do que na extração manual.

Do processo manual podemos afirmar que é relativamente inofensivo ao escorpião. Não se esgotam as glândulas veneníferas. Na maioria dos indivíduos, se extrai apenas o veneno "hialino" ou um tanto turvo, sem chegar às últimas reservas.

A percussão elétrica, com 6 Volt. ao contrário, expele todo o veneno e certamente também algumas configurações celulares. Parece-nos que também êste método é bastante inofensivo. Pelo menos não verificamos aumento da

quota de mortalidade entre os escorpiões. Si o periodo de 15 dias entre as extrações é suficiente para que haja novamente a mesma quantidade de veneno, não pudemos ainda averiguar suficientemente. Em 2 extrações, pelo menos, há muito pouca diferença entre o pêso do veneno sêco por escorpião.

5. Tityus behiensis (Extração manual durante o ano de 1952)

Data	N.o escorpião	mg. venen- lapuido	mg. veneno	o veneno sêco veneno liquido	mg. venenr séco por escorpião
7/1	103	0.0345	9,8	16,7	0,025
13/2	7.3	0,0140	2,8	20,0	0.038
24 3	5.4	0.0287	4.1	14.3	0.050
8 '4	142	0.039)	15.8	17.7	0,110
24/4	168	0.0730	15,0	20.0	0,079
3 3	146	0.0796	19,9	24.0	0,130
23/5	142	0,0600	15.0	25,0	0.10
6'6	138	0,0303	10,0	19.0	0,070
20 6	138	1,0430	8.6	20,0	0,062
7 17	141	Π,0604	0,9	16,7	0.070
23 7	136	0,0620	12.4	20,0	0.090
7 3	131	• .0300	6,0	19,6	0.070
22 8	117	0,0255	4,0	19,2	0,041
9 9	122	0.0303	7.7	23,0	0,063
2419	122	0.0372	7.3	24,6	0.061
9/10	104	0.0273	5.3	20.0	0,05
23 10	107	0,0455	9.1	20,0	0,08
6 11	98	0.042	8,2	19,9	0,083
20/11	84	0,0329	0.9	18,8	0.071
10/12	70	0.9305	5.7	19,3	0.034
26/12	43	0,01.43	1.5	17,6	0,031
To 215:	2.334	0.950 mg	1992 tas		
Médias		0.4		19.9	0.073

6. Tityus bahiensis (Extração manual durante o 1.º trimestre de 1953)

Data	N.º e-cor-	ng. veneno li suklo	ng tenero	'e veneno ecco e veneno liquido	piao piesose- piao
13.1	21	0,01.5	1.9	15,0	0,079
30.1	21	0,01 0	19 19 5 10	15,3	0,104
12.2	21	1,1125	2,3	15,4	0,109
1.5	14,	0,0155	1,5	23,0	0.093
27.3	**************************************	0,17101	24,0	20,0	0,090
1 1	45.1	0,3355	61,3	19,4	0,619
15/1	179	0,0540	11.2	20,0	9,063
177.1	1012	1,530	196,0	20,0	0,11
To: «	2452	1,0^50	212,1		
Medic		0,1		19,9	0,05

O fato do rendimento do veneno sêco por escorpião ser um pouco maior neste trimestre, em comparação com o do 1952, se explica pela remessa de 1.000 escorpiões, mais ou menos, em Março e que foram extraídos pela primeira vez.

7. Tityus bahiensis (Extração por choque elétrico)

Data	N. es	corpião n	ig veneno liquido	mg veneno seco	co e veneno liquido	my veneno se co p/escor- pião
2/5/53		256	0,129	58,9	45,3	0,23
17/5/53	1	026	0,5121	235,6	46,0	0,23
Totais:		1.282	0,641 m1	294,5 mg		!
Médias			0,5		47,2	0,23

INTERPRETAÇÃO:

I. A manutenção de escorpiões vivos para fins de estudos científicos (biologia, costumes, etc..), para experiências de precisão sôbre a atividade do veneno (titulação da peçonha, eletroforese, estudo químico, etc.) e para melhorar o método da obtenção do sôro anti-escorpiónico, tem indubitalvelmente grandes vantagens.

Os aspecto científico, por si só, já justificaria a criação em viveiros.

Quanto à obtenção da peçonha por extração, repetida cada 15 ou 20 dias, impõe-se a vantagem de se ter os escorpiões em laboratório, não dependendo mais da remessa de glândulas em glicerina.

Vejamos os dados estatísticos: No ano de 1952 vieram ao Butantan apenas 505 Tityus serrulatus. Tomando-se em conta a quota de mortalidade devido ao trajecto desde o local de captura até a chegada no Instituto e que soma a 38% (a mortalidade é alta nos primeiros dias de chegada), sobram dêstes 505 escorpiões apenas 315.

Si se praticasse o método antigo, ter-se-ia, portanto, apenas esta quantidade de ferrões para serem cortados e triturados.

Pelo método de criação, entretanto, repentindo-se a extração cada 2 ou 3 semanas, conseguimos extrair a peçonha de 2.716, escorpiões no ano de 1952, obtendo 145, 8 mg de veneno sêco em vácuo e guardado sôbre cloreto de cálcio, em dessecador escuro.

Em 1953 vieram apenas (até Maio) 77 T. serrulatus, mas foram extraídos 1.078, dando 57.7 mg de veneno sêco e os mesmos foram ainda submetidos à extração elétrica em número de 312, dando mais 105,6 mg de veneno sêco.

Assim, 380 escorpiões, em 31 extrações desde Janeiro de 1952 até Maio de 1953, forneceram 309 mg de veneno séco. O trabalho é certamente trabalhoso, pois para a obtenção desta quantidade mínima foram extraidos nada menos de 4.174 escorpiões.

Com Tityus bahiensis verifica-se o mesmo. Vieram durante o ano de 1952 e até Maio de 1953, 1.786 escorpiões, com 674 mortos durante o trajeto e na 1.ª semana de viveiro. Entretanto, conseguimos extrair, neste periodo de tempo, o veneno de 6.148 aracnídeos, dando 697 mg de veneno seco.

Além destas indiscutiveis vantagens (veneno séco, mais ou menos puro, susceptiveis à pesagens rigorosas e soluções estandartizadas em mg de veneno séco) acresce, neste processo, ainda outra: a de se poder aproveitar igualmente todas as glándulas dos animais que morrem. Dáriamente revisam-se os viveiros. Os escorpiões mortos são retirados, aproveitando-se as glándulas, guardadas como sempre em glicerina, para aproveitamento na innunização de cavalos.

2. Da interpretação dos protocolos de extração aparecem os seguintes fatos curiosos: Na extração manual o veneno sêco por escorpião da espécie T. serrulatus está em tórno de 0.052 mg (valor médio) e de T. bahiensis em tórno de 0,07 — 0,08 mg. Este veneno é, quando líquido, transparente, "hialino" e quando sêco, apresenta o quadro de "cristaloides". Digno de nota é o fato, de veneno de T. bahiensis ser bem mais "hialino" e conter quase que sômente configurações "cristalóides", enquanto que o veneno de T. serrulatus, mesmo já nas primeiras gotículas, contêm muitas vêzes já a substância opalescente, um tanto leitosa. O quadro microscópico revela neste caso configurações "cristalóides" ao lado de uma substância amorfa. Na extração por eletro-choque, fornece um T. serrulatus 0,33 mg e um T. bahiensis apenas 0,23 mg. O aspecto microscópico dos dois venenos é igual uma substância amorfa. Também o aspecto macroscópico não difere em nada. É uma substância espessa, leitosa.

Quanto ao veneno liquido, fornece o T. serrulatus, em média. 0,2 mg e o T. bahiensis 0,4 mg, portanto, o dôbro do primeiro. O veneno sêco de T. serrulatus é de 25-26% do liquido e de T. bahiensis de 19,9% apenas, na extração manual. Isto significa que o veneno de T. bahiensis é mais diluido que o de T. serrulatus ou que contêm mais das contigurações, que chamamos de "aspecto cristalóide".

Pelo método de eletro-choque já não há quase diferença entre a percentagem de veneno séco e líquido nas duas espécies (42,5% T. serrulatus e 45% T. bahiensis), como também não há diferença no aspecto microscópico dêste veneno "amorfo" das duas espécies.

A comparação do rendimento na quantidade do veneno séco na extração manual e elétrica dá os seguintes dados médios por indivíduo;

- T. scrrulatus manual 0.052 mg: elétrica 0.33 mg:
- T. bahiensis manual 0,07 mg; elétrica 0,23 mg.

Isto significa que a extração por processo de choque elétrico rende 6 vêzes mais veneno sêco no *T. serrulatus* e 3,3 vêzes mais no *T. bahiensis* do que a extração manual.

Somando-se, entretanto, as quantidades de veneno séco, obtidas nos dois processoso manual e o elétrico — pois, na realidade foram sempre aplicados os dois na mesma ocasião, então temos os seguintes dados completos do veneno séco por escorpião:

- T. serrulatus 0,38 mg por individuo; quantidade mėdia;
- T. bahiensis 0,30 mg por individuo quantidade média.
- O conteúdo das duas bolsas veneníferas nas duas espécies é, portanto, aproximadamente igual, o que corresponde também às dimensões e à robustez destes dois escorpiões, que são pràticamente iguais.
- 3. Quanto ao comportamento das duas espécies em viveiros observamos que o *T. serrulatus* é bem mais fácil de ser mantido em condições de laboratório. Ele se adapta bem nos viveiros, consoante talvez seus hábitos "domiciliares", enquanto que o *T. bahiensis* é mais irrequieto, procurando escapar, espalhando-se pelas paredes e pelo fôrro.

Temos mesmo a impressão, baseados em nossas observações, de que o T. serrulatus é mais resistente em viveiro do que o T. baltiensis.

Nos trabalhos da extração da peçonha é igualmente mais fácil operar-se com o *T. serrulatus*, pois a serrilha, presente no dorso do ante-penúltimo artículo caudal facilita muito a apreensão deste escorpião com a pinça, enquanto que a cauda do *T. bahiensis* é bem mais escorregadia.

4. Os valores mínimo e máximo de veneno por escorpião das duas espécies, embora sejam quantidades tão infimas que não possam ser medidas fàcilmente, não podem ser estabelecidos em base estatística. Entretanto, como já temos retirado o veneno de perto de 9.000 escorpiões e como temos sempre constatado que um certo número dêles não dá veneno algum, nem pelo processo manual, nem pelo elétrico, outro número fornece 2-3 gotículas ou mesmo mais e. finalmente, um certo lote, está tão carregado de veneno que este jorra em fino jato, estabelecenios a relação do mínimo e máximo como sendo de 1: 10. Isto corresponderia, na realidade, ao fato de que existem escorpiões sem veneno algum (acidentes humanos de consequências nulas), ou relativamente com pouco veneno (0,2-0,3 mg), acarretando, em caso de picada numa pessoa, dôr intensa, mas passageira, com maior ou menor intoxicação geral, ou ainda com dose máxima de peçonha (2-3,5 mg), a prejudicar seriamente uma pessoa. Cremos mesmo que os casos humanos fatais, devidos à picadas escorpiônicas, que ocorrem anualmente entre nós, principalmente em crianças, são devidos à escorpiões com doses elevadas de veneno.

ZUSAMMENFASSUNG

Künstliche Skorpiongiftentualime.

In Brasilien gibt es zwei Skorpionarten, deren Stich dem Menschen gefährlich werden kann und durch die schon mehrere Todesfälle vorgekommen sind und jährlich vorkommen. Es handelt sich dabei um die beiden Skorpione Tityns serrnlatns und Tityns bahiensis.

Ersterer ist ein typischer Hausskorpion. Er macht sich die menschlichen Wohnungen zur eigenen Behausung; dringt da in alle Räume ein; versteckt sich in Schränken, Kleidungen, Beschuhung, unter Brennholz, Ziegeln, aufgerissenen Mauern, etc.. T. serrulatus kommt hauptsächlich in Belo Horizonte und nächster Umgebung vor, dann in Ribeiräo Preto und in fast allen Städten des Staates São Paulo, die der Grenze vom Staate Minas Gerais entlang liegen, inklusive die Städte am Fusse des Mantiqueiragebirges.

Tityus bahieusis dagegen ist ein ausgesprochener Feldskorpion. Er haust meistens in Termitenbauten, in Erdrissen und Löchern. Da er in fast allen Gegenden des Staates São Paulo anzutreffen ist, einschliesslich der Hauptstadt von São Paulo, ist es nicht zu vermeiden, dass auch er sich in den Städten und menschlichen Wohnungen häuslich niedergelass en hat, entweder weil er durch Eisenbahngüter (Holz, Ziegel, etc..) dahin verschleppt wurde oder weil neue Städte und neue Stadtteile da entstanden sind, wo früher Land war und wo er immer schon gehaust hat.

Es ist dem Verfasser gelungen, diese beiden Skorpionarten an die Laboratoriumsbedingungen zu gewöhnen. In Holzhästen von 60 zu 60 cm Länge und Breite und 20 cm Höhe könnem ohne Weiteres an die 100 Skorpione untergebracht werden. Als Unterschlüpfe verwendet man am besten schwarzen steifen Karton, dessen Ränder man nach unten biegt (20:20:3 cm Länge, Breite und Höhe). Die Skorpione halten sich darunter vorwiegend auf und verlassen diese Verstecke nur wenn es dunkel wird.

Der bekanntlich unter den Skorpionen herrschende Kannibalismus wird am besten durch reichliche Nahrungszufuhr bekämpft. Die Nahrung besteht am besten aus kleinen Spinnen, die mit Vorliebe verspeist werden. Grössere Spinnen kann man zerkleinern, damit alle Skorpione etwas erhalten. Zerriebenes Fleisch wird auch angenommen, wenn auch mit weniger Neigung als Spinnen. Als vorteilhafter Nahrungsplatz erweist sich natürlich der Unterschlupf, weil sich ja da die Skorpione aufhalten. Am besten legt man die Nahrung auf kleinere Kartons und schiebt diese unter die Unterschlüpfe. So kann man auch sehr bequem jeden Tag die Säuberung ausführen.

Der kannibalistische Trieb wird nur wach, wenn die Weibehen ihre oft über 20, lebendiggeborenen, Jungen auf dem Rücken tragen. Ohne Gegenwehr

frisst dann ein Skorpion die Jungen der anderen Mutter auf. Oft, wie nach Vereinbarung, stellen sich drei mit Jungen beladene Weibchen gegenüber und fassen abwechselnd mit den Händen auf den Rücken der Partnerin. Das geht stundenlang, bis kein Jungtier mehr vorhanden ist.

Will man also Skorpione hochzüchten, so ist es unbedingt nötig, die mit jungen beladenen Weibchen aus den Kästen herauszunehmen und in Einzelbehälter zu bringen.

Alle zwei Wochen müssen die Skorpione entfernt und die Kästen mit viel Wasser und Seife gut gereinigt werden.

Auf diese Weise ist es uns gelungen, hunderte von Skorpionen der beiden Arten monatelang am Leben zu erhalten und ihnen alle 2 bis 3 Wochen das Gift abzunehmen.

Skorpiongift in trockener und möglichst reiner Form zu gewinnen, um damit Pierde zu immunisieren zu einem gut dosierbaren Anti-Skorpion Serum, war immer das Ziel aller Institute, die gegen die giftigen Skorpione Sera herstellen. Aber bisher arbeiten wohl alle, indem sie frischen, eben getöteten Skorpionen das letzte Schwanzglied mit den beiden Giftdrüsen abschneiden. Dieses dann im Mörser zerreiben und auf je 10 Glieder 1 cm³ physiologische Kochsalzlösung dazugeben. Nach Mazerierung wird abzentrifugiert und der überstehenden Flüssigkeit reines Glyzerin im Verhältnis von 2:1 dazugegeben. Diese Lösung wird dann an Meerschweinchen oder Mäusen titriert, wobei die Menge der Drüsen pro cm³ als Ausgangspunkt gilt.

Mit dieser Lösung werden auch die Pferde, in immer steigenden Dosen, innerhalb von Wochen, immunisiert.

Es war allen klar, dass diese Methode, sowohl der Titrierung wie auch der Immunisation, keine genaue sein konnte. Man konnte nie feststellen, ob die Drüsen nun auch wirklich Gift enthielten und wieviel. Die Pferde wurden nicht bloss mit Skorpiongift immunisiert, sondern auch mit Muskel, — Drüsen —, und Epithelzellen und anderen eiweisshaltigen und wasserlöslichen Chitinstoffen, die durch das Mazerat des totalen Schwanzendgliedes in Lösung übergegangen waren.

Dem verschiedenartigem Antigen zofolge mussten auch verschiedene Antikörper im Pferde gebildet und ins Serum übergenommen werden.

Es fehlt nicht an Forschern, die aus diesem Grunde den Skorpionseren aus aller Welt eine nur sehr geringe, und ausserdem praktisch unkontrollierbare Wirkung, zuschreiben.

Es war uns daher sehr daran gelegen, die Möglichkeit der Reingiftgewinnung praktisch zu erproben.

Wir wenden dabei zwei Methoden an, die der manuellen und der elektrischen Giftgewinnung. Bei beiden Methoden wird ein Skorpion nach dem anderen miteiner gebogenen, mit kleinen Zähnchen ausgestatteten Pinzette am vorletzten Schwanzglied angefasst und mit der rechten Hand hochgenommen. Daumen und Zeigefinger der linken Hand greifen dicht an das letzte Schwanzglied, der Daumen ober-und der Zeigefinger unterseits. Für den Zeigefinger besteht keine Stichgefahr, weil der Schwanz nicht nach unten gebogen werden kann. Um aber den blitzschnellen Stössen des Stachels nach oben zu entkommen, schützt der undurchdringliche Daumennagel, der natürlich mit seinem Ende dem Skorpionglied eng aufliegen muss, damit kein Stich unter den Nagel erfolgen kann.

Hat man nun den Skorpion in dieser Stellung, lässt man die Pinzette los. Da das Tier Aufwärtsbewegungen macht und dabei Gift entleert wird, kann man ohne Weiteres diese Gifttröpichen in einem kleinen, sorgfältig reinem und zuvor genau abgewogenen Uhrglasschälchen aufnehmen. Dann versucht man es noch eimal. Kommt kein Tröpichen mehr zum Vorschein, dreht man den Skorpion vorsichtig zur Seite, immer zwischen den beiden Fingern der linken Hand und presst leicht gegen die Giftdrüsenwände. Oft kommt dann noch ein weiteres Tröpichen, das wiederum im Schälchen aufgenommen wird. Zum Schluss fasst man den Skorpion wieder mit der Pinzette und bringt ihn in den Kasten zurück.

Nach einiger Übung ist es möglich an die hundert Skorpione in I Stunde zu entgiften.

Um Anfänger mit dieser nicht ungefährlichen Arbeit vertraut zu machen, empfiehlt es sich, etwa 10 Skorpionen den Stachel etwas vor der Mitte abzuschneiden, so dass der restliche Teil keine Spitze mehr hat, also auch nicht mehr die menschliche Haut durchbohren kann.

Da sich so ein Skorpion in Allem genau wie ein unversehrter benimmt, kann man auf diese Weise den Prozess gut erlernen.

Die Giftabnahme auf elektrischem Wege ist ähnlich. Mit 4 Taschenlampenbatterien kan man sich leicht ein Instrument zurechtbauen mit positivem und negativem Pol-der eine nur 1 mm vom anderen entfernt- mit einer ungefähren Stärke von 5-6 Volt.

Man nimmt dann den Skorpion wie bei der manuellen Methode und kommt mit der Unterseite seines Schwanzgliedes mit den beiden Polen in Verbindung. Alsbald entsteht eine Kontraktion mit rascher Aufwärtsbewegung und am Ende des Stachels kommen die Gifttröpichen zum Vorschein, die im Uhrgläschen gesammelt werden.

Nach Beendigung der Giftabnahme wird das Schälchen abgewogen, nm die Menge des flüssigen Giftes zu bestimmen. Dann kommt das Schälchen in einen Exsikator mit Vakuum, um das Gift zu trocknen. Nach dem Trocknen wird wieder abgewogen, um das Trockengift zu bestimmen. Die gesammelten Trockengiftmengen können ohne Weiteres im Exsikator, unter Vakuum, über Kalziumchlorit monatelang aufgehoben werden.

Dass sich die, wenn auch etwas mühselige und geiährliche, Methode wirklich rentiert, mag aus folgenden Ziffern hervorgehen:

Im Jahre 1952 erhielt das Institut Butantan von der Art Tityns serrulatus nur 505. Davon starben unterwegs und in der ersten Woche wegen Entkräftigung an die 38%. Von den restlichen 315 konnten im selben Jahre 2.716 Giftabnahmen mit 145,8 mg Trockengiit gemacht werden. 1953 (bis Mai) kamen von auswärts nur 77 Skorpione. Da die vom vorigen Jahre noch grösstenteils am Leben waren, konnten in dieser Zeit wiederum 1.078 Abnahmen mit 57,7 mg Trockengiit gewonnen werden. Ausserdem wurde zur selben Zeit noch 312 Skorpionen das Gift auf elektrischen Wege abgenommen (nach der manuellen Extraktion) und nochmals 105,6 mg Trockengiit erreicht.

380 Tityus serrulatus ergaben also in 16 Monaten 4.106 Giftabnahmen (alle 2-3 Wochen) mit insgesammt 309 mg Trockengift.

Von der anderen Art, Tityns bahiensis, erhielt Butantan 1952 und bis Mai 1953 an die 1.786, mit 674 Toten darunter. Dennoch konnten während derselben Zeitspanne 6.148 Giftabnahmen (manuell und elektrisch) gemacht und 697 mg Trockengift gewonnen werden.

Unter anderen interessanten Tatsachen wurden folgende Zahlen festgelegt:

1. Die Durchschnittstrockengistmenge pro Individum bei der manuellen Extraktion liegt bei. T. serrulatus bei 0,052 mg; bei T. bahiensis bei 0,07 mg; bei elektrischer Extraktion bei T. serrulatus bei 0,33 mg und bei T. bahiensis 0,23 mg. Addiert man die Ergebnisse beider Extraktionen, wie es der Wirklichkeit entspricht "da ja dieselben immer geich hintereimander von selben Individuum gemacht wurden) so erhalt man als Gesammtergebnis: T. serrulatus 0,38 mg Trockengist und T. bahiensis 0,30 mg pro Einheit.

Die elektrische Methode erzielt bei serrulatus 6 mal und bei bahiensis 3 mal die Giftmenge der manuellen Abnahme.

2. Was das flüsige Gift anbetrifft gibt 1 serrulatus manuell 0,0002 ml, ein bahiensis aber 0,0004. Elektrisch erhält man von 1 serrulatus 0,0008 ml und von einem bahiensis 0,0005 ml.

Bei serrulatus ist also das manuell gewonnene Trockengift 25-26% und bei bahiensis 19,9 % des flüssigen Giftes.

Bei der elektrischen Methode dagegen liegen die Prozehnte des Trockengiftes zum flüssigen Gifte bei beiden Arten ungefähr auf gleicher Höhe — 42,5% bei serrulatus und 45% bei bahiensis.

3. Interessant ist weiter die Tatsache 'dass die ersten Giftröpfehen bei der manuellen Abnahme klar und durchsichtig sind, wäkend die weiteren Tröpfehen immer trüber, milchiger aussehen, besonders bei der elektrischen Abnahme.

Das klare Gift ist besonders bei bahiensis gut zu sehen. Im mikroskopischen Bilde scheint dieses Klargift "krystalloider" Natur zu sein, während das dicke, milchige "Sekundärgiit" amorpher Natur ist.

4. Es muss ausserdem erwähnt werden, dass die genannten Mittelwerte, obwohl sie an grossen Zahlen errechnet wurden, dennoch der Wirklichkeit nicht entsprechen. Wir haben bei den tausenden von Giftabnahmen festestellen können, das unter den Skorpionen beider Arten manche überhaupt kein Gift besitzen (weder manuell noch elektrisch); andere haben I-3 Tröpfchen; wieder andere etwas mehr. Schliesslich ist ein gewisser Prozehntsatz darunter, dessen Gift bei der elektrischen Abnahme mit einem richtigen dünnen Strahl ausspritzt. Wir sehen uns daher zu der Schlussfolgerung veranlasst, die minimalen und maximalen Giftmengen pro Skorpion lägen ungefähr wie 1: 10. Nach den oben errechneten totalen Mittelwerten wären also die Minima bei beiden Arten bei Null und die Maxima bei serrulatus um 3,8 mg bei bahiensis um 3 mg herum.

Dass Dieses den Tatsachen zu entsprechen scheint, geht aus den menschlichen Unfällen hervor. Es gibt Skorpionstiche, wobei das Opfer kaum etwas mehr als einen kleinen Schmerz verspührt. Andere Fälle zeigen, ausser rasendem Schmerz, der stundenlang anhalten kann, auch Symptome einer Allgemeinvergiftung und schliesslich ist ein gewisser Prozehutsatz auzuführen, hauptsächlich bei kleinen Kindern, der unter allgemeinen, sehr schweren nervösen Symptomen, zum Tode durch Erstickung führt.

SUMARIO

Após alguns anos de experiência são publicados os dados referentes à manutenção dos escorpiões *Tityus serrulatus* e *T. bahiensis* em condições de laboratório e os processos de extração periódica de sua peçonha.

Quanto ao "habitat" natural é assinalado o hábito "domiciliar" para o T serrulatus (Ribeirão Preto, Belo Horizonte e cidades fronteiriças com o Estado de Minas Gerais) e o hábito "campestre" para o T. bahiensis, que ocupa cidades quase que só acidentalmente, embora seja encontrado atualmente em inúmeras cidades do Estado de São Paulo, Minas, Rio de Janeiro, Espirito Santo e Bahia.

Observou-se que na criação e manutenção em viveiros, o T. serrulatus é mais resistente e se sente mais acomodado do que o T. bahiensis.

No tocante à obtenção da peçonha das duas espécies é demonstrado que êste método, apesar de ser operoso e não isento de perigo, fornece realmente veneno séco em quantidades apreciáveis o que justifica plenamente os cuidados diários, pois tal quantidade nunca seria atingida com os escorpiões que o Instituto Butantan recebe anualmente pelos fornecedores.

389 T. serrulatus, vindos de tóra, deram 4.106 extrações em 16 meses com 309 mg de veneno sêco e 1.100 T. bahiensis deram 6.148 extrações com 697 mg de veneno sêco.

Em 7 protocolos estatísticos são calculadas as quantidades de veneno sêco, de veneno líquido e da percentagem do veneno sêco em relação ao líquido nas duas espécies, tanto no processo, chamado "manual" de extração, como no processo de extração por choque elétrico.

Para fins de experiências cientificas procurou-se separar o veneno em dois tipos o "hialino" e o "leitoso", demonstrando-se ser o primeiro muito higroscópico, bem mais que o segundo e ter o primeiro aspecto microscópico de configurações chamadas "cristalóides" (sem pretender que sejam realmente cristais) e o segundo aspecto amorfo, uniforme.

Somando-se os venenos secos das duas extrações — a manual e a elétrica — e comparando-se os resultados nas duas espécies, chega-se à conclusão de que o *T. serrulatus* fornece em média 0,38 mg por individuo e o *T. bahiensis* 0,30 mg.

Insiste-se, entretanto, que êstes valores médios, calculados sóbre grande número de escorpiões, nem sempre condizem com a realidade, pois toi demonstrado que há um bom número de individuos que não fornecem veneno algum, quer na extração manual, quer na elétrica, enquanto que outros tem 2-3 gotas ou mais e outros aínda apresentam verdadeiros jatos veneníferos. Os valores mínimo e máximo, si bem que não mensuráveis, por estarem na ordem entre 0 e 0,3 mg até talvez 3 mg (respectivamente valor mínimo, médio e máximo), existem realmente e explicam — a nosso ver — os casos humanos fatais, ocorridos principalmente em Ribeirão Preto e Belo Horizonte.

SUMMARY

The author presents experimental results of several years of observation on the keeping of *Tityns serrulatus* and *Tityns bahiensis* scorpions under laboratory conditions with periodic extraction of their venom.

He describes the domiciliary habits of the *T. serrnlatus* which lives preferably in population centers (Ribeirão Preto, Belo Horizonte, and towns on the border of the State of Minas Gerais), whereas the *T. bahiensis* of more campestral habits, is only occasionally found in towns, even if its presence has lately been reported in various localities of the States of São Paulo, Minas, Rio de Janeiro, Espirito Santo, and Bahia.

For breeding and keeping purposes, the *T. scrrulatus* was observed to be more resistant and better suited than the *T. bahicusis*.

The extraction of the venom from these 2 species is a laborious process which is not void of danger, but the appreciable quantities of dry venom

obtainable, justifity the extra daily care, as the same total yield per annum could never have been obtained by the usual process of extraction from the killed animals which the Institute receives from its suppliers.

During 16 months, the author sueeeeded in collecting 309 mg of dry venom from 4.106 extractions of 380 T. serrulatus and 697 mg from 6.148 extractions of 1.112 T. bahiensis.

The amounts of dry and of liquid venom, as well as the percentage of dry venom in relation to the liquid in both species, which were obtained either by the so-ealled "manual" extraction method or by means of an electric shock, are calculated in 7 statistical tables.

For scientific purposes the venom was separated into 2 types, "hyaline" and "milky", the first of which was shown to consist of microscopic so-ealled "crystalloid" configurations (without inferring they are really crystalline) and to be much more hygroscopic than the milky type which presented a uniform amorphous aspect.

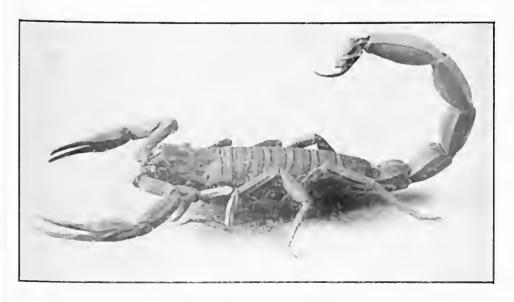
In order to compare the results of venom extraction by both the manual and the electric method for the two species, the amounts of dry venom were added up, giving a mean yield of 0.38 mg per individual *T. serrulatus* and 0.30 mg per *T. bahiensis*.

The average values, however, which were ealculated from quite a large number of seorpions, have a rather limited meaning, as many animals yield no venom at all by either extraction method whereas others give 2 to 3 drops and some may even squirt out considerable quantities of venom. The extensive range, from 0,0 mg for the minimum, through 0,3 mg for the mean up to, possibly, 3,0 mg for the maximum yield of venom from a single scerpion may, according to the author, explain the occurrence of fatal human cases, principally in Ribeirão Preto and Belo Horizonte.





Foo 1 = 7 ttyns seisustus



For 2 - Tityes bahiensis

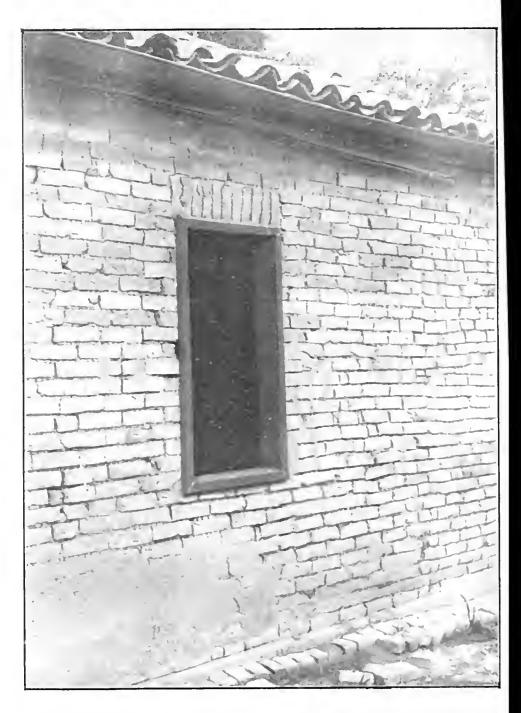


Foto 3 — Moradia em Belo Horizonte, com ausencia de reboco nas paredes externas.

Foram retirados 8 T. serrulatus das paredes. Fotografado pelo A.)



Fixo 4 — Pelras natura s, sem ajuri ment poe rebleo, dão esconderijo ao escrepto. Bela Horizonte. Encontraram-se 12 T_c seeru stus neste trecha da fundamenta. (Fotografado pelo Λ_c)



Foto 5 - Do alpendre sob a casa foram retirados 7 T. serralatas. Belo Horizonte. (Fotografado pelo A)



Foto 6 = Belo Horizonte. Fotografía tirada pelo A, num bairro, ende o T. serrulatus se totnou uma praga demiciliar. Os feixes de lenha, as pedras colocadas a esmo, os madeiramentos e tijolos, oferecem o máximo de confórto ao escorpião.

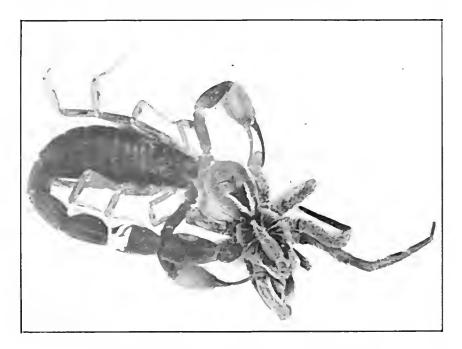


Foto 7 - Um escorpião matando uma Lycosa erythrognatha.

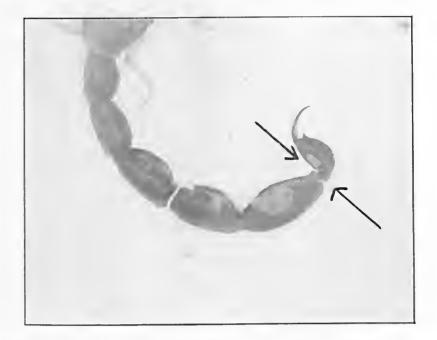


Foto 8 - As duas flichas indicam como se deve aprender o escorpião com a pinça.

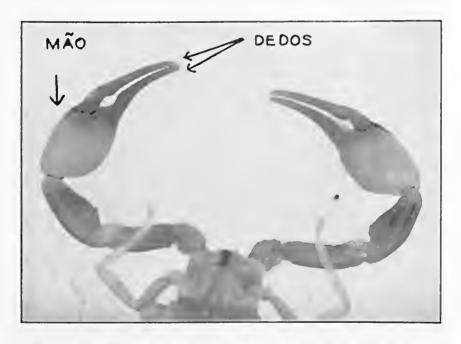


Foto 9 -- As duas "mãos" do escorpião, vendo-se entre es "dedos" pequenos dentes.

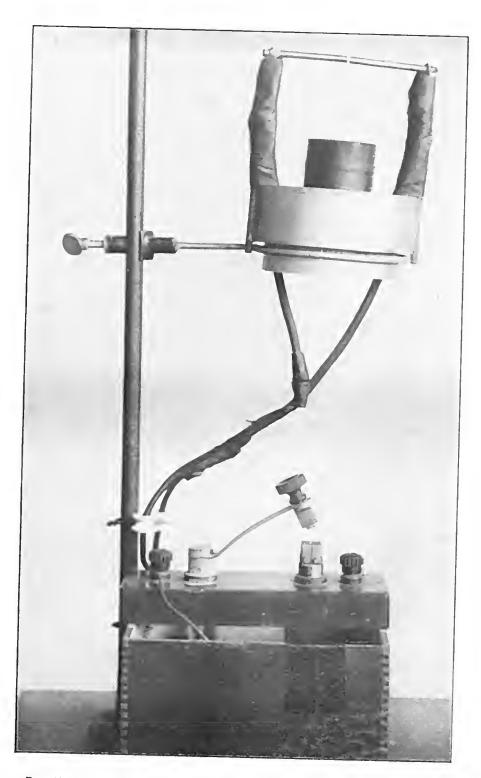


Foto 10 — Apareiho empregado na extração do veneno de escorpião por meio de estimulo elétrico.

ESCORPIÕES E ESCORPIONISMO NO BRASIL

2. Atividade das peçonhas de Tityus serrulatus e T. bahiensis sobre camundongos

WOLFGANG BUCHERL

(Laboratório de Animais Peçonhentos, Instituto Butantan, S. Paulo, Brasil)

INTRODUÇÃO

Muitos pesquisadores têm procurado averiguar a ação da peçonha dos dois estorpiões sul-americanos, Tityus serrulatus (do Brasil) e T. bahiensis (Argentina, Paragnai e principalmente Brasil). Entre outros devem ser mencionados H. Maurano (1) que estabeleceu a dose minima mortal do veneno séco, obtido por choque elétrico do T. bahiensis, como sendo de 1.5 mg para o cobaio, em injeção subcutânea.

- V. Brasil (2), ao relatar suas experiências com a fabricação do primeiro sóro anti-escorpiónico, monovalente, contra o T. bahiensis, títulou este sóro em cobaios.
- O. Magalhães (3) fez diversos ensaios de dosagem das peçonhas tanto de bahiensis como de serrulatus.

Longe de querer desmerecer estes pesquisadores e pioneiros, vemos, contudo, a necessidade de proceder a novas dosagens, possivelmente mais rigorosas e repreduziveis, estabelecendo não mais as doses mortais minimas, mas a LD50, tanto por via venosa como subcutânea das peçonhas das duas espécies.

Era de interesse também, não dosar sómente o veneno em bruto, mas possivelmente separar as diversas colheitas, isto é, o veneno correspondente às goticulas limpidas, hialinas, o das gotas opalescentes e o das últimas gotas, leitoso, espesso, para estabelecer qual das frações era mais ativa.

OBTENÇÃO DA PEÇONHA

Os escorpiões das duas espécies estão sendo mantidos vivos no laboratório de Animais Peçonhentos. Duas a três vezes por semana recebem alimento que consiste principalmente em aranhas.

Entregue para publicação em 30 de Junho de 1953.

Cada 15 a 20 dias, em média, é retirada deles a peçonha, empregando-se nisto dois processos: o da simples extração manual e o do choque elétrico.

O T. bahiensis costuma fornecer nas primeiras 2 gotículas um veneno líquido, transparente, hialino, que pasaremos a chamar de "fração hialina". Na medida que seca ostenta movimentos brownianos. Em estado sêco aparecem iiguras com aspecto de cristais, com agulhas muitas vezes ramificadas (Fotos 1 e 2).

As gotículas seguintes são opalescentes, aqui chamadas de "Fração opalescente" e as últimas gôtas, finalmente, têm aspecto leitoso. Secam estas sem movimento browniano perceptível. Em estado sêco apresentam um aspecto uniforme, granular, com raras formações "cristalóides". Esta peçonha chamanos ed "fração leitosa" (fotos 3 e 4).

No Tityus serrulatus existem igualmente estas 3 frações, ainda que, na maioria dos indivíduos, já o primeiro veneno se apresente opalescente, portanto com as frações leitosas e hialina misturadas.

Também nesta espécie a microfotografia mostra o aspecto "cristalóide" da fração hialina e o amorio, de gránulos, na fração leitosa (Fotos 5 e 6).

Não é assunto dêste trabalho analisar as frações ou a verdadeira natureza principalmente do veneno leitoso e do hialino, de maneira que a expressão "cristalóide" deve significar aqui apenas um termo que permita distinguir fàcilmente de que fração de peçonha se trata.

Das duas espécies escorpiônicas foram isoladas as três frações e depositadas, separadamente, em pequenos vidros de relógio, exatamente tarados. Os venenos foram secos à temperatura ambiente, em vácuo. Após secagem pesava-se rigorosamente a placa, para verificação da quantidade de veneno sêco. Este era guardado sêco, em vácuo, sóbre cloreto de cálcio, em ambiente escuro

Cada 15 ou 20 dias repetia-se o processo de extração, juntando-se as diferentes frações, cada uma por si, para resguardo em vácuo, sóbre clorêto de cálcio.

PREPARAÇÃO DAS SOLUÇÕES DA PEÇONHA

Cada fração dos três venenos das duas espécies era rigorosamente pesada em balança ultra-sensível. Preparava-se, em seguida, uma solução em água destilada mais cloreto de sódio a 8,5 por mil. Com esta solução faziam-se as diluições, também com água fisiológica, empregando-se em todo o processo de diluição o máximo rigor (uso de pipetas calibradas; tubinhos de dosagem bem limpos e rigorosamente secos; ausência de bolhas de ar, etc.).

Empregamos interpelações entre 0,001 mg e 0,01 ou entre 0,01 mg e 0,1 mg de veneno sêco, estabelecendo em cada escala de dosagem 7 termos, com

o tato: de diluição 1,468. As soluções de peçonha eram diluidas com salina de maneira que o total do inoculum correspondia a 0,5 cm³, quando injetado na veia e a 0,3 cm³, quando injetado subcutâneamente.

A injeção venosa era teita na veia caudal dos camundongos e a subcutánea sobre o músculo da perna. No último caso não se tinha garantia absoluta de a injeção não ter penetrado ocasionalmente dentro do músculo, mas via de regra podia ela ser considerada como subcutânea.

Como animal de ensaio empregamos comundongos dos biotérios do Instituto. Foram pesados imediatamente antes dos ensaios, admitindo-se apenas desvios de 2 gramas sobre o pêso standard de 20 gramas por animal. Não ligamos importância ao sexo, empregando indiretamente machos e fêmeas.

Terminada a dosagem foram os camundongos observados durante o tempo de intoxicação e mais ainda durante as seguintes 24 horas. De uma certa quantidade dêles, principalmente dos que foram injetados subcutâneamente, fizeram-se necrópsias para descobrimento de possíveis lesões, determinadas pela peçonha.

No preparo das soluções de veneno temos constatado que a fração do veneno seco que correspondia ao veneno hialino é muito higroscópica, dissolvendo-se fácilmente na salina e fornecendo uma solução limpida, principalmente no T, bahiensis,

As frações de peçonhas correspondentes ao veneno opalescente forneciam nas duas espécies soluções levemente opalescentes, com uma quantidade mínima de substância que não se dissolvia.

As frações da peçonha seca provenientes dos venenos leitosos dissolviamse com alguma dificuldade na proporção de 1 mg, mais ou menos, para 8 cm³ de água fisiológica. A solução apresentava aspecto opalescente, havendo mesmo pequenos grumos e flócos indissolúveis no permeio.

Como em nossos ensaios tivessemos trabalhado sempre apenas na ordem de 1 a 4 mg de veneno sêco, não tinhamos à mão meios de pesar rigorosamente êste residuo insolúvel. A igualação do pH da solução ao do veneno natural também não favorecia a solução. Pensamos que êstes residuos devem ser restos de cêlulas glandulares do aparelho venenifero do escorpião.

Nas dosagens empregamos seringas rigorosamente calibradas, praticandoe a injeção lentamente principalmente quando dada na veia.

DETERMINAÇÃO DA LD₅₀ EM CAMUNDONGOS

Na titulação da dose 50% letal para camundongos, por via venosa e subcutânea, das peçonhas sêcas, rigorosamente pesadas e dissolvidas em salina, empregamos o método de Reed Muench (4), entrando no resultado o cálculo das mortalidades acumuladas e sucessivas de todos os grupos de animais ensaiados. Titulação da LD₅₀ do veneno "hialino, cristalóide"
 Tityus serrulatus
 (via venosa)

Dose mg.	Camundongos			Acumulação dos resultados			0 de	
	total	vivos	mortos	vivos	mortos	total	mortalidade	
0,01	5	5	0	14	0	14	0,00	
0,015	5	5	0	9	0	9	0 0,0	
0.021	5	3	2	4	2	6	33 %	
0,032	5	1	4 :	1	6	7	85,5	
0,146	5	0	5	0	11	11	100 %	
0,068	5	0	5	0	16	16	100 %	
0,1	5	0	5	0	21	21	100 %	
Fator de diluição 1,468	35	14	21	29	56	84	LD ₂₀ = 0,0	

Repetiu-se a mesma dosagem com uma partida de veneno sêco, proveniente do veneno líquido hialino de *Tityus serrulatus*, já com 8 mêses de laboratório e submetido a 14 extrações.

A toxicidade variou muito pouco, sendo a $\rm LD_{50}=0.0016~mg$ por grama de camundongo.

Tityus bahiensis
(via venosa)

Dose mg.	Camundongos			acumulação dos resultados			% de
	total	vivos	mortos	vivos	mortes	total	mortalidade
0,1	5	5	0	11	0	11	0
0,16	5	4	1	6	1	7	14,3
0,25	5	2	3	2	4	6	66,6
0,40	5	0	5	0	9	9	100
0,63	5	0	5	0	11	14	100
1,00	5	0	5	0	19	19	100
Fator de diluição 1,5%	30	11	19	19	47	66	1.D _{bo} = 0.22

Nesta partida de veneno tomou-se o cuidado de aproveitar apenas a primeira gotícula do hialino, límpido e muito transparente.

Repetimos a mesma dosagem, também com veneno líquido hialino, mas apenas da segunda e terceira gotícula. Nesta segunda titulação a dose 50%

letal para camundongos, por via venosa, era de 0,002 mg por grama de camundongo.

Verifica-se, portanto, uma variação bastante acentuada entre a primeira goticula e as gotículas seguintes, tódas elas de aspecto hialino, transparente.

Tityus serrulatus (via subcutanea)

A titulação da dose 50% letal para canundorgos, por via subcutânea, feita com o mesmo fator de diluição como na via venosa (1,468) e com a mesma partida de peçonha, deu em 35 canundorgos num ensaio 0,002 miligramas por grama de animal, e num segundo ensaio 0,0018 mg por gr. de canundorgo.

A dose 50% letal por via subcutânea é, portanto, apenas 1 e meia vêzes mais elevada do que a venosa.

Tityus bahiensis (via subcutanea)

A mesma peçonha, empregada na titulação por via venosa, com o mesmo fator de diluição (1,585) deu como dose 50% letal por grama de camundongo 0.025 mg, quando se aproveitava apenas a primeira gota de veneno; nas duas gotas seguintes a dose 50% letal era de 0.004 mg por grama de camundongo.

Entre as doses subcutânea e intravenosa da fração hialina de T. bahiensis há, portanto, o dobro.

2. Titulação da LDzo do veneno seco, proveniente da peçonha opalescente

Tityus serrulatus (via venosa)

Tomando-se novamente 1,468 como fator de diluição da peçonha e praticando-se as injeções na veia em 7 séries de camundongos do mesmo pêso (5 animais em cada série), verificou-se em 35 camundongos que a dose 50% mortal era numa amostra de veneno 0,0009 miligramas por grama de animal e de uma outra amostra 0,0011 mg por grama.

Houve, portanto, muito pouca diferença entre as duas titulações.

O veneno seco proveniente da fração liquida opalescente é, portanto, um pouco mais ativo do que o "hialino", ainda que talvez não significativamente.

Tityus bahiensis (via venosa)

Fator de diluição das soluções de veneno opalescente: 1,468. 7 séries de experiências com 5 camundongos cada série.

Resultado: — Dose 50% mortal igual a 0,0009 miligramas numa experiência e 0,002 miligramas numa segunda titulagem.

Verificam-se aqui dois fatos: a) O veneno opalescente já é mais uniforme em sua ação sôbre camundongos do que foi o veneno "hialino", que mostrara diferenças nas duas titulações que variavam entre 2 e 11 gamas; b) o veneno "leiroso" é significativamente mais ativo do que o "hialino".

Tityus serrulatus (via subcutânea)

Fator de diluição da peçonha sêca, proveniente do veneno opalescente, igual a 1,468.

7 séries de dosagens com 5 camundongos cada.

Resultado: — Dose 50% mortal igual a 0,0009 miligramas numa titulação e 0,0014 miligramas numa outra.

A inoculação parenteral do veneno de T. serrulatus, nesta fração de peçonha, é, portanto, práticamente igual à injeção intravenosa.

> Tityus bahiensis (via subcutanea)

Fator de diluição da peçonha sêca, proveniente da fração opalescente: 1,468. 7 séries de dosagens com 5 camundongos cada.

Resultado: — Dose 50% mortal igual a 0,002 miligramas numa titulagem e a 0,004 miligramas numa outra por grama de animal.

Nesta espécie a dose subcutânea, si bem que não seja igual à intravenosa (como acontece na peçonha opalescente de *T. serrulatus*), aproximase, contudo, bem de perto da mesma, sendo 2 vezes mais elevada.

3. Titulação da LD50 do veneno sêco, proveniente da peçonha leitosa.

Tityus serrulatus (via venosa)

Dose mg.	Camundongos			Acumulação dos resultados			o de
	total	Vitos	mortos	VIVOS	mortos	total	mortalidade
0,0046	10	7	3	9	3		
0,068	10	9		0		12	25
0,01	5	0	8	2	11	13	85
0.015	5	ν.	5	6	16	16	1000
		0	5	0	21	21	1000
0.21	5	0	5	0	26	26	1000
0.032	5	0	5	0	31	31	1000
Fator dd. 1,468	40	5	31	11	198	119	LDss - 0,607

Dose 50% mortal por grama de camundongo = 0,0003 mg.

Numa segunda titulagem do mesmo veneno leitoso, pelo mesmo processo, chegamos à dose 50% mortal por grama de camundongo = 0,0005 mg.

Tityus bahiensis (via venosa)

Fator de diluição da peçonha seca, proveniente de veneno leitoso = 1,468. ő séries de 10 camundongos cada.

Resultado: — LD_{50} por grama de camundongo = 0,0005 miligramas numa titulagem e 0,00065 miligramas numa segunda.

A peçonha sêca, obtida do veneno liquido, de aspecto leitoso e que corresponde às últimas gotículas da extração manual ou elétrica, constitúi em *T. scr-rulatus* e *T. bahicusis* o tipo de peçonha sem dúvida mais ativo e mais uniforme em sua ação.

A não existência de uma diferença significativa entre as titulações repetidas caracterizam a uniformidade em cada amostra. Interessante é igualmente o fato de que êstes venenos têm quase o mesmo grau de atividade nas duas espécies escorpiônicas, ainda que a peçonha de *T. serrulatus* pareça um pouco mais ativa.

Tityus serrulatus (via subcutânea)

A mesma amostra de veneno, que forneceu uma LD_{50} intravenosa igual a 0,0093 mg, deu, nas mesmas condições de trabalho e com o mesmo número de animais, uma dose 50 % mortal, por via subcutânea igual a 0,0003 mg.

A segunda amostra, com LD_{50} venosa = 0,0005 mg deu titulagem, por via subcutânea = 0.00062 mg.

Verifica-se, portanto, que em T. serrulatus, no veneno leitoso, as LD_{50} são as mesmas, tanto na veia como por via subcutânea.

Tityus bahiensis (via subcutanea)

Fator de diluição da peçonha "leitosa" = 1,468.

6 séries de 10 camundongos cada.

Resultado: — Dose 50% mortal = 0,0007 miligramas numa titulagem e 0,0009 miligramas numa segunda.

A mesma amostra de veneno que deu uma LD_{50} venosa = 0.0005 miligramas forneceu 0.0007 miligramas como média mortal subcutânea; a de 0.00065 miligramas venosas deu 0.0009 miligramas por via subcutânea.

Há, novamente, portanto, uma grande concordância na atividade da peçonha de *T. bahiensis* de um lado nas duas vias de inoculação e do outro com a peçonha de *T. serrulatus*, apenas um pouco mais ativa mas que mal chega, a nosso ver, a ser significava.

COMPORTAMENTO DOS CAMUNDONGOS

Nas 24 titulagens para verificação de LD₅₀ temos sempre anotado também o *tempo de morte* ou o tempo das crises de intoxicação, ou quando se começavam a verificar as melhoras e a recuperação completa.

Nas duas espécies de escorpiões êstes tempos ofereciam um perfeito paralelismo no seguinte sentido:

"Quando as doses eram acima das mortais, tanto na veia como subcutâneamente, e na medida que eram mais concentradas, os animais morriam já dentro de 1-2 minutos nas doses *venosas* altas, dentro de meia hora a duas horas e meia (quando logo acima de 50% mortal na *veia*) e dentro de 3 horas a 4 horas, quando em torno da 50% mortal *venosa*.

Passado êste tempo, isto é, depois de 3 ou 4 horas, já se iniciava a fase de recuperação, o que demonstra que, por via venosa, ambas as peçonhas escorpiónicas são de *eliminação rapidissima*.

Por via subcutânea repetia-se o mesmo: morte já dentro de 15 a 30 minutos com doses bem concentradas, acima das letais 50%, dentro de 1 a 3 horas nas doses pouco acima das letais e dentro de 3 a 5 horas nas letais 50%, com o início de recuperação após 6 horas, com normalização completa já dentro de 8-10 horas.

Isto constitúi nova prova da rápida eliminação das peçonhas".

Pelo comportamento dos camundongos confirma-se um fato já sabido: o da ação da peçonha de *T. serrulatus* e *T. bahiensis* sôbre o sistema nervoso central, principalmente. No principio da intoxicação há uma *fase excitatória*, aliada à dor. Os camundongos se tornam irascíveis, mordem-se, brigam, dão pulos para o alto com gritos agudos, isto principalmente nas injeções subcutâneas.

Como primeiro sinal sobrevem então o eriçamento dos pêlos na nuca e lacrimejamento.

Depois vem a fase da depressão cerebral, cada vez mais generalizada e progressiva. O animal fica quieto; suores abundantes na nuca são constantes; perturbações visuais até cegueira total são a regra; os suores progridem ràpidamente e se estendem pelo corpo inteiro. O pulso se acelera; tremores gerais sobrevêm; paresias, primeiro das pernas posteriores e depois generalizadas; ataques de dispnéia e a posição de cabeça para baixo são a regra. A dispnéia

e os suores aumentam. Os animais parecem suíocar. Antes de sobrevir a morte, os suores são tão profusos que o animal parece ter sido emergido da água. Finalmente é esvasiada invariavelmente a bexiga e a morte se verifica por suíocação, instalando-se logo a rigidez tetânica.

A profusão dos suores é muito acentuada justamente com amostras de peçonha provenientes do veneno liquido limpido, ao passo que é menor com o veneno leitoso, ainda que o suor sempre exista na intoxicação escorpiónica.

Também a dôr parece ser menor com o veneno leitoso.

Como, por outro lado, tivéssemos constatado que é justamente a peçonha leitosa a mais ativa, impõe-se a suspeita de que haja no veneno dos dois escorpiões uma substância estranha, mais freqüente na fração chamada límpida. Esta substância parece incrementar a sudorese e aumentar a dôr, embora fosse menos tóxica do que a do veneno amorfo, granular.

De fato, o aspecto microscópico de uma goticula de veneno hialino, apresenta quadros completamente diferentes do veneno granular, amorfo (Fotografias).

É claro que, na prática, tanto na extração artificial da peçonha como por ocasião de uma picada, sempre se misturam as frações do veneno hialino, opalescente e leitoso, de maneira que a sintomatologia deve ser encarada como sendo consequência do conjunto.

Foram feitas necrópsias de diversos camundongos após a morte, retirando-se não sómente partes do pulmão, do figado, do intestino, da vesícula e do músculo, mas inspecionando-se ao mesmo tempo a zona da injeção subcutânea. Não foi verificado nada de anormal, confirmando-se a ação primordial da peçonha dos dois escorpiões sóbre o cérebro, como já foi descrito por muitos pesquisadores.

Eliminação rápida, ação práticamente igual tanto por via intra-venosa como subcutânea, sudorese muito acentuada — são os característicos principais do envenenamento escorpiônico.

DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Quanto à obtenção dos venenos secos, de peso constante, conservados em dessecador escuro, em vácuo, sobre cloreto de cálcio, quer pelo método da extração manual ou por excitação elétrica, cremos que tenhamos chegado a um resultado positivo. Positivo no sentido da quantidade e da qualidade e bôa conservação.

Quantitativamente falando é possível armazenar durante mêses algumas centenas de miligramas de *T. serrulatus* e *T. balniensis*. Secando-se êstes venenos em vácuo e conservando-se os mesmos em escuro, no vácuo, sôbre clo-

roto de cálcio, conservam seu aspecto de pó branco bem como tódas as propriedades tóxicas.

É, pois, possível estocar-se as peçonhas, juntando a quantidade extraída cada quinzena ou cada 20 dias ao estoque. Nisto não é necessário separarem-se as chamadas frações hialinas, opalescentes e leitosas, mas pode estocar-se perfeitamente o veneno "in toto". No momento do uso para qualquer experiência ou imunização, basta dosar-se préviamente a LD₅₀ em camundongos.

A estocagem do veneno sêco representa sem dúvida uma grande vantagem sobre os métodos de conservarem-se os venenos escorpiônicos em solução. Vital Brazil (2) e H. Maurano (1) têm aconselhado soluções aquo-glicerinadas; Vianna Martins (5) empregava soluções fisiológicas com toluol e mais tarde com formol. Todos êles partiam sempre de triturados de glândulas inteiras, acentuando tanto Maurano (1) como Vianna (5) que a contaminação por germes aeróbios e anaeróbios e a consequente putrefação das soluções, constituiam um dos maiores empecilhos de qualquer trabalho mais exato sôbre as peçenhas escorpiônicas.

Vital Brazil (2) exige mesmo o preparo de veneno sêco para qualquer experiência mais acurada.

Já Belleme (1874), depois C. Phisalix e de Varigny (6), Calmette (1896) e entre nós H. Maurano (1) têm submetido os escorpiões à excitação elétrica e obtinham veneno. Entretanto, as quantidades de todos êles eram muito pequenas para qualquer estudo comparado em grandes séries de animais de experiência.

O estabelecimento exato da atividade da peçonha escorpiônica pela titulação LD_{50} em animais de laboratório não está isento de dificuldades. Tendose um grande estoque de veneno sêco, pode determinar-se fâcilmente a dose 50% mortal para determinado grupo de animais (aconselhamos os camundongos pelo pouco pêso e pelas reações precisas), repetindo-se cada vez esta titulação, quando se assume um veneno diferente.

A questão, entretanto, muda de figura, quando se pretendem titular pequenas amostras de veneno, colhidas dos escorpiões para êste fim. Neste caso o veneno sêco "t o t a l". isto é, o obtido de tódas as gotas, hialinas, opalescentes e leitosas, terá atividade diferente por exemplo do veneno hialino ou do leitoso, como se deduz pelas nossas determinações das doses 50% mortais com os diferentes tipos de peçonha.

Estas diferenças serão ainda mais acentuadas por via subcutânea do que na veia e variarão grandemente segundo a espécie.

Temos constatado que em T. serrulatus e em T. bahiensis as peçonhas sêcas provenientes das gotas leitosas, que apareciam na ponta do ferrão por último nas extrações, eram justamente as mais aticas. Viu-se igualmente que justamente estas frações eram as mais constantes em sua atividade, mesmo

quando eram de amostras e extrações diferentes. O mesmo não se dá com as frações hialinas, isto é, com o veneno séco das gotas transparentes, que aparecem em primeiro lugar na extração.

É um veneno que varia bastante em sua atividade, principalmente no *T. baltiensis*, podendo ser numa amostra de 5-6 vezes nuis ativa do que numa outra ou terceira.

Este fato está em contradição com o que foi constatado por Phisalix e de Varigny (6) que extrairam por excitação elétrica as peçonhas de Prionurus australis, separando em recipientes especiais as goticulas hialinas, as opalescentes e as últimas, leitosas e constataram que justamente as primeiras, hialinas, eram as mais ativas, com uma dose mínima letal subcutânea para cobaio, de 0,1 mg, enquanto que eram precisos 0,15 mg, para matar com o veneno leitoso.

Ou, empregaram poucos animais, e não chegaram a conclusões precisas pela minima mortal, ou existem realmente diferenças biológicas no escorpião africano que o distingam das duas espécies do Brasil. Em todo caso, acharam os dois pesquisadores, em vista de seus resultados, que o último veneno do escorpião, o leitoso, era uma peçonha ainda não amadurecida; que ela tinha que estar em contato com o liquido dos canais eferentes das bolsas de veneno e amadurecer ai, dando então veneno limpido, maduro, ativo.

Em nossas experiências nas extrações repetidas já durante anos, chegamos à conclusão de que a fração que temos chamado de "opalescente" é realmente apenas intermediária entre o hialino e o leitoso, contendo elementos de ambos. Entretanto, estas duas extremas, devem conter, ao que nos parece, substâncias iguais umas e diferentes outras.

Nas fotomicrografías (veja no fim do trabalho) do veneno hialino vêm-se configurações na peçonha séca que lembram a figuras cristalóides, enquanto que o veneno leitoso apresenta aspecto granular, homogêneo.

Quando ao pH diferem muito pouco estes dois venenos, enquanto que a fração hialina é muito mais higroscópica do que a leitosa e se dissolve facil— e completamente na água fisiológica — o que não acontece com a última. A suspensão aquosa desta apresenta-se fortemente opalescente quando em proporção de 1 mg de veneno sêco para 8 cm³ de água fisiológica. Submetendo-se a solução à centrifuigação, torna-se mais límpida, aparecendo um depósito relativamente volumoso.

Este depósito, após centrifugação demorada, períaz, mais ou menos, a metade do pêso do veneno sêco leitoso e parece constar de elementos epiteliais e celulares, insoluveis em água e inativos.

Tomando-se em conta êste fato, então ressalta que o veneno escorpionico, particularmente a fração derivada da leitosa, é ainda duas vezes mais ativa na dose 50% letal para camundongos, do que a referida por nós, pois não

tomamos em consideração o pêso dêste depósito, porque trabalhamos sempre, nas titulações, com 1 a duas miligramas. Assim as LD_{50} das frações leitosas poderiam ser calculadas para T. serrulatus como sendo de 0,15 gamas a 0,3 gamas na veia e por via subcutânea e em T. bahiensis de 0,25 a 0,32 na veia e 0,35 a 0,45 gamas subcutâneamente por grama de camundongo.

Num acidente real por picada de escorpião, entretanto, é sempre arrojada em primeiro logar a fração hialina da peçonha. Quase sempre o aracnídeo tenta diversos golpes com seu dardo, de maneira que são injetadas também as frações opalescentes e. finalmente, as leitosas. Quanto maior fôr, portanto, o número de picadas, mais intenso será o envenenamento do acidentado, não sômente em virtude da maior quantidade de peçonha arrojada mas também em razão dos diversos componentes ativos da peçonha total.

Sem querer divagar pelo terreno especulativo em casos de acidentes humanos por envenenamento escorpiónico, cremos poder afirmar que é quase sempre inoculada a peçonha total nos acidentes graves e de média gravidade.

Das titulações das frações hialinas e leitosas em camundongos ressalta também o seguinte: — Em T. bahiensis a DL_{50} por via subcutânea é o dôbro da por via endovenosa e em T. serrulatus também quase o dôbro, no veneno hialino, ao passo que no leitoso as mesmas quantidades de peçonha são, aproximadamente, de potência igual por via venosa e por via subcutânea.

Quanto à sintomatologia do envenamento parece-nos que ambas as frações sejam igualmente atuantes sobre o sistema nervoso central, sôbre o bulbo, com destruição bulbar e das funções vegetativas dos neurônios bulbares, como já foi demonstrado por diversos pesquisadores, como O. Magalhães (3).

A incrivel rapidez de ação bulbar, que já se verifica em camundongos dentro de alguns minutos, mesmo por via subcutânea, e no homem também dentro de 15 a 30 minutos (O. Magalhães), é comum às frações hialinas e leitosas, bem como a eliminação rápida pelo organismo e o restabelecimento à normalidade já dentro de algumas horas, quando as doses de peçonha forem subletais.

Observamos igualmente que os sintomas dôr e a sudorese dos camundongos eram os mesmos nas duas frações. Na sintomatologia humana elas já foram descritas minuciosamente por O. Magalhães, insistindo êste autor, em 1935, que existe no bulho cerebral um centro de secreção sudorípara, na região do 4.º ventrículo bulbar e que êste é prejudicado em suas funções normais.

Não, sem razão, poder-se-ia, portanto, deduzir que provávelmente existem as mesmas substâncias tóxicas nas frações hialinas e leitosas ou elementos diversos, mas com ação idêntica sobre o bulbo cerebral e com a mesma rapidez de ataque e eliminação.

Cremos também que existam as mesmas substâncias venenosas em ambas as frações ,mas estamos inclinados, além disso ,a suspeitar da presença de elementos diferentes, de igual ação cerebral (aspecto fotomicrográfico diferente das duas frações e do gráu de toxicidade diferente, principalmente na via subcutânea da fração hialina). Para avaliar devidamente esta nossa, opinião deve-se ter em mente que as titulações sempre foram feitas com veneno sêco, de pêso constante. No caso da fração hialina, portanto, correspondia o veneno sêco principalmente às configurações cristalóides da fotomicrografia, enquanto que o veneno sêco leitoso tem aspecto granular.

Este ponto precisa ainda de melhor estudo, também pelo lado químico e fisiológico.

Não queriamos abandonar êste capitulo sem estabelecer um quadro de toxicidade comparada entre os dois escorpiões do Brasil e outros representantes perigosos em outros continentes e países, como Centruroides gracilis, noxius, suffusus e limpidus do México e Buthus occitanus, B. quinquestriatus, Prionurus australis e amoreuxi do Norte da Africa e Palestina.

De todas estas espécies, inclusive as nossas duas, constam documentadamente casos humanos fatais pelo envenenamento.

Infelizmente não possuimos dados sobre DL 50 % em camundongos ou outros animais de laboratório, feitos com veneno sêco, de pêso constante.

Apenas Tetsch, e Wolff, (7) titularam exatamente a peçonha de um escorpião da Siria, sem dizerem a espécie, com uma DL_{50} % por grama de camundongo em torno de 0,9 gamas.

E. Sergent, estabeleceu em, 1935, as doses minimas mortais para camundongos, via subcutánea ,como sendo de 1 glándula em *Buthus occitanus*, 0,30 glándula em *Buthus arenicola* e 0,05 glándula em *Prionurus australis*. Já anteriormente houve dosagens da mínima letal. Segundo Calmette 0,5 mg de um escorpião africano mata um cobaio; segundo Kubota 0,015 mg de um escorpião mexicano mata um camundongo. Phisalix e de Varigny dão 0,1 até 0,2 mg de *Buthus australis* como suficientes para matar cobaio; enquanto que C. Phisalix consegue matar cobaios com doses que variavam entre 0,14 a 0,5 mg, estabelecendo como minima letal 0,1 mg.

Em Buthus quinquestriatus foi igualmente estabelecida a dose mínima letal por kg de cobaio como sendo 0,1 mg.

Infelizmente, on não foi identificada a espécie, ou não se dosava a mortal 50%, ou ainda não se empregava veneno sêco, de maneira que os dados acima não justificam em absoluto a afirmação de H. Maurano, de que a toxicidade de T. bahiensis (êle não conhecia ainda o T. serrulatus como espécie própria, embora tenha trabalhado com ela, misturando os dois venenos, provávelmente), era fraça em comparação com a de B. occitanus e B. quinquestriatus.

CONCLUSÕES

A peçonha de T. serrulatus e T. bahiensis pode ser retirada manualmente ou por excitação elétrica cada 15 ou 20 dias, de escorpiões mantidos em viveiros.

Esta peçonha pode ser séca facilmente em vácuo e guardada em estado de pó branco em vácuo, no escuro, sobre cloreto de cálcio, sem perda de atividade.

Com o veneno sêco podem-se titular as DL_{50} %, mas é mistér repetir-se sempre a titulação tôda vez que se assume novo veneno, porque cada estoque, mesmo da mesma espécie, pode ter atividade um tanto diferente.

Para dosagens rigorosas e determinações exatas da atividade das peçonhas escorpiônicas recomenda-se colhêr em separado as gotículas límpidas e as últimas leitosas; secá-las à parte e titulá-las separadamente.

As DL₅₀ % de *T. serrulatus* e *T. bahiensis* têm-se mostrado diferentes no veneno hialino e no veneno leitoso, menores no último e mais uniformes, maiores e mais discordantes no primeiro.

O Tityus serrulatus é, mais ou menos, duas vezes mais venenoso do que o T. bahiensis — tato êste que se deve principalmente à particularidade biológica de, em geral, o T. serrulatus ter muito menos veneno hialino do que o T. bahiensis e de inocular já na primeira aguilhoada veneno chamado opalescente (granular).

A inoculação de simples veneno limpido, hialino, como pode acontecer fàcilmente com T. bahiensis (com DL_{50} % subcutânea para camundongos entre 4 a 25 gamas por grama) determina no homem, em geral, apenas dôr ligeira, mas não intoxicação grave.

As peçonhas de *T. serrulatus* e *T. bahiensis* são de rápida eliminação, devendo verificar-se as melhoras no homem já depois de 6 a 8 horas, via de regra, quando forem apenas arrojadas doses sub-letais.

Casos de morte de pessoa adulta por picada de T. serrulatus e ainda mais por T. bahiensis constituem raras exceções entre o número de acidentados, mas podem acontecer.

Para indivíduos de pouco pêso (crianças até 10 ou 15 kg) podem os acidentes escorpiónicos revestir-se de gravidade e terminar mesmo com a morte.

Dada a rapidez da ação da peçonha, deve-se instalar a soroterapia já dentro de meia a 1 hora, o mais tardar, nos casos graves, dada a irreversibilidade das lesões bulbares nas doses letais.

RESUMO

Demonstra-se que, quando se extraem as peçonhas do Tityus serrulatus e do T. bahieusis, o aspecto das primeiras gotículas de veneno é de uma substância transparente, hialina, principalmente em T. bahieusis.

As goticulas seguintes têm aspecto mais turvo, opalescente e as últimas gotas apresentam aspecto leitoso e são de consistência espessa.

Estas frações do veneno líquido podem ser separadas melhor na simples extração, feita á mão; na extração pelo choque elétrico elas se misturam, sendo o primeiro jorro, mais limpido, seguido por veneno leitoso.

No T. serrulatus muitas vezes já as primeiras gôtas têm aspecto opalescente.

Na secagem do veneno liquido em vácuo, sóbre cloreto de cálcio, obtêm-se dos 3 tipos de veneno um pó amorfo, esbranquiçado, com leve tonalidade para o amarelo. O pó proveniente do veneno hialino é muito higroscópico e dissolve-se fácilmente em salina, enquanto que o proveniente do leitoso, espêsso, é bem menos solúvel em salina, sobrando mesmo uma bôa quantidade de substâncias não solúveis.

A ação dos dois venenos sobre o camundongo é rapidissima. Quando injetados na veia, em quantidades acima de LD50, sucumbem os animais já dentro de segundos, minutos ou nas primeiras 2 horas, conforme as diversas concentrações do veneno. Os sintomas são preponderantemente nervosos, cerebrais, com pronunciada hipersecreção das glândulas salivares, aumento da diurese, dispnéia e paresias. A sudorese, que principia na nuca, é invariávelmente tão alta que os camundongos, ao morrerem, estão tão molhados que parecem ter saido de um banho geral. O tetanismo post mortem é imediato.

Os animais, com quantidades de peçonha abaixo da LD50, têm sudorese menor ou mesmo só circunscrita à região da nuca e melhoram após 2 horas, normalizando-se completamente dentro de 4-5 horas.

Nas injeções subcutâneas repetem-se os mesmos sintomas de intoxicação como na veia. Como elemento novo acresce a sintomatologia da dor, traduzida nos camundongos por irritabilidade, agressão mútua, pulos desordenados e gritos agudos, até que sobrevenha a prostração e sudorese, com dispnéia e paralisia progressiva. A morte é novamente muito rápida, ocorrendo dentro de 4 horas no máximo. Depois deste tempo os animais restabelecem-se aos poucos, estando normais depois de 7-8 horas.

E demonstrado ainda que, pelo menos nas frações que, por comodidade de expressão chamamos de leitosas, espessas, a LD_{50} venosa não difere quase da LD_{50} subcutânea. o que não soe acontecer com outros venenos animais, por exemplo, venenos de *Crotalus terrificus* ou das serpentes botrópicas.

O autor empregou na determinação de LD₅₀ o método descrito por Reed e Muench (4). De cada veneno sêco das duas espécies foram feitas desde 1951 até Maio de 1953 nada menos de 24 dosagens, 12 intravenosas e 12 subcutâneas. Os camundongos eram dos biotérios do Instituto e pesavam 20 gramas cada um.

Sem querer discutir a natureza do veneno sêco, foi êste separado em 3 porções, o proveniente das gotículas hialinas, transparentes, o proveniente de gotas opalescentes e o das gotas leitosas, brancas, espessas.

Cada uma desta 3 partidas foi înjetada na veia e subcutâneamente, fornecendo as seguintes LD₅₀ por grama de camundongo:

T. serrulatus	Veia	subcut.	
	1,2-1,6 gamas 0,9-1,1 " 0,29-0,58 "	1,S-2,2 gamas 0,9-1,4 " 0,3-0,62 "	veneno limpido " opalescente " leltoso
77 1 11 1			
T. bahiensis			

Dêstes protocolos pode inferir-se: 1.º que o veneno "leitoso" é o mais ativo nas duas espécies, não diferindo quase a dose venosa da subcutânea; 2.º que o veneno do *T. serrulatus* é, em linha geral, duas vezes mais ativo do que o do *T. bahiensis*; 3.º que na peçonha, proveniente da fração de aspecto limpido, transparente (mais comum em *T. bahiensis*) a LD₅₀ subcutânea é geralmente o dôbro da LD₅₀ venosa e que esta última fração, principalmente em *T. bahiensis*, está sujeita a graduações de intensidade de ação Lem marcadas (4 gamas até 25 gamas subcutâneas ou 2 gamas e 11 gamas venosas).

Demonstra-se ainda que as diferenças na LD₅₀ são menores em *T. serrula*tus do que em *T. bahiensis*. Não há diferença quase na chamada fração leitosa nas duas espécies. A diferença de atividade da peçonha escorpiônica, particularmente em *T. bahiensis*, corre por conta do chamado veneno limpido, hialino.

Tomando-se em conta as quantidades máximas, médias e mínimas, que podem ser injetadas numa picada por um dêstes escorpiões e que foram calculadas pelo autor, em outro trabalho, como sendo de 3 mg, 0.3 mg e 0 mg, respectivamente, então chega-se à conclusão de que, em vista das LD50, êstes escorpiões poderiam matar até 7 ou 10 kg de camundongo, devendo considerar-se que o organismo humano é ainda mais sensível.

ZUSAMMENFASSUNG

Nimmt man den beiden giftigsten Skorpionen Brasiliens, Tityus serrulatus und T. bahiensis das Gift ab, so erscheinen die ersten Tropfen meistens als

klare Flüssigkeit, die nächsten haben trübes Aussehen und die letzten sind milchig und zähilüssig.

Während das bei T. bahiensis fast die Regel ist, kommen bei serrulatus oft die ersten Tropfen schon trübe heraus.

Von beiden Arten wurden diese drei Giftflüssigkeiten getrenut abgenommen, dann im Vakuum getrenut getrocknet. Alle drei geben einen weisslichen Staub, der sich im Vakuum, über Kalziumchlorit sehr lauge erhält, ohne seine Wirksamkeit zu verlieren.

Der Staub der klaren Giftflüssigkeit ist sehr hygroskopisch und lässt sich sehr leicht vollständig in physiologischer Kochsalzlösung lösen, während der des milchigen Giftes viel weniger löslich ist und fast die Hälfte seines Gewichtes als unlöslicher Rückstand abzentrifugiert werden kann.

Beide Trockengiste zeigen eine äusserst schnelle Wirkung auf die Mänse. Bei intravenöser Verabreichung sterben die Tiere schon in Sekunden, Minuten oder innerhalb zwei Stunden, jå nachdem die Gistmengen über der Dosis laethalis media (LD 50 %) liegen. Die Vergistungserscheinungen liegen ausgesprochen im Gehirn (Nervengiste), mit zunehmender Steigerung der Speicheldrüsen und Schweissdrüsentätigkeit (deren regulierende Zentren im Gehirne liegen). Blindheit, Tränenfluss, Nackenlähmung, Dispnöe und Atmungslähmung treten dann auf, bis der Erstickungstod die nun ganz von Schweiss gebadeten Tiere erlöst. Nach dem Tode tritt eine vollkommene tetanische Rigidität ein.

Erhalten die Tiere kleinere, unter der 50 prozehntigen tödlichen Menge liegende Dosen, bleibt der Schweissfluss meist nur auf die Nackenregion beschränkt, mit mehr oder minderer Vergiftungsbeteiligung auf nervöser Basis und die Tiere erholen sich schon innerhalb von 2 Stunden und sind nach 4-5 Stunden wieder normal.

Bei subcutanen Injektionen wiederholen sich die gleichen Symptome, auch zeitlich, mit Todeseintritt innerhalb von Minuten bis spätestens 4 Stunden oder Erholung und vollständige Genesung nach 4 Stunden respektive 7-8 Stunden.

Bei den Skorpiongisten der beiden Arten konnten wir seststellen, dass die subkutane Verabreichung mengenmässig und zeitlich hinter der venösen Einverleibung kaum zurückbleibt, was als Neuheit unter den tierischen Gisten zu bezeichnen ist, da doch bei den meisten Schlangengisten, zum Beispiel, die subkutanen Dosen oft das 4-6 fache der intravenösen sein müssen, um die gleichen Vergistungserscheinungen hervorzurusen.

Zur exakten Bestimmung der mittleren tödlichen Dosis (DL₅₀) wandten wir weisse Mäuse an. Alle von 20 Gramm Gewicht. Die Lösungen wurden intravenös und subcutan gespritzt, intravenös mit je einem halben Kubikzentimeter und subcutan mit drei zehntel.

Sowohl bei T. serrulatus als auch bei T. bahiensis wurden die transparenten, die trüben und die milchigen Gifte getrennt im Vakuum getrocknet und vonjeder so gewomenen Giftart je drei Lösungen hergestellt (mit physiologischer Kochsalslösung).

Seit 1951 bis Mai 1953 wurden so von jeder Giftart je 12 Dosierungenvorgenommen, intravenös und subcutan, zusammen 24 Dosierungen. Jede Dosierung basierte auf 7 Verdünnungen der Stammlösung und bei jeder Verdünnung wurden 5-10 gleichschwere Mäuse benutzt, also 35 bis 70 Mäusepro Versuch.

Die Ergebnisse der Titulierung der LD50% sind pro Gramm Maus:

T. serrulatus	intravenős	subcutan	Giftart	
	0,0012-0,0016 mg 0,0009-0,0011 mg 0,0003-0,0005 mg	0,0018-0,0022 mg 0,0002-0,0014 mg 0,0003-0,0006 mg	klares Flüssigkeit trübe " milchige "	
T. bahiensis	1			
	0,0020-0,0111 mg 0,0009-0,0020 mg	0,0040-0,0250 mg 0,0020-0,0040 mg	klare Flussigkeit trûbe "	
	0,0005-0,0006 mg	0,0007-0,0009 mg	milchige	

Aus der Tabelle kann man erschen: — 1°. Dass das Trockengift von der milchigen Fraktion, die als letzte bei der Giftentnahme erscheint, die wirksamsteist, wobei die venösen Mengen von den subcutanen kaum verschieden sind; 2°. Dass das Gift von T. serrulatus im allgemeinen 2 mal wirksamer als das von T. bahiensis ist; 3°. Dass das aus der klaren Flüssigkeit gewonnene Gift, besonders bei T. bahiensis, weit weniger einheitlich ist und dass subcutan eindoppelte Menge der intravenösen nötig ist zum gleichen Vergiftungseffekt; 4°. Je milchiger das Gift, um so einheitlicher und stärker, je klarer, um soschwächer.

Da wir in einer anderen Arbeit dargelegt haben, dass die maximalen, mittleren und minimalen Trockengiftmengen, die bei einem Stich eingespritzt werden können, um 3 mg, 0,3 mg und 0 mg liegen können, ist leicht zu ersehen, dass 7-10 kg Maus eventuell von einem Skorpion getötet werden können, dass also menschliche Todesfälle, besonders von Kindern von 10 bis-20 kg Gewicht, vorkommen können und auch tatsächlich sich ereignen. Todesfälle Erwachsener kommen vor, sind aber selten.

SUMMARY

It is shown that on extracting the venoms of Tityus serrulatus and T. bahiensis the first drops form a substance of transparent, hyaline aspect, principally in the case of T. bahiensis. The subsequent drops have a more turbid, opalescent appearance and the last drops of venom are milky and viscous.

These fractions of the liquid venom may best be separated by simple "manual" extraction; during the extraction by the "electric shock method" they get mixed generally, the first issue being clearer, followed by opalescent and milky venom.

With the T. serrulatus quite trequently even the first drops have an opalescent appearace.

By drying the liquid venom under vacuum, over calcium chloride, the 3 types of venom yield an amorphous whitish powder with a slight yellow tinge. The dry residue of the hyaline venom is very hygroscopic and dissolves easily in saline solution, whereas that from the milky, viscous venom is less soluble and leaves a considerable quantity of insoluble material.

The action of these two venons on mice is extremely rapid. When quantities above the LD50 are injected intravenously, the animals die within seconds, minutes or the first two hours, according to the various concentrations of the venom. The symptoms are nervous, cerebral, with pronounced hypersecretion of the salivary and lacrimaly glands, increased diuresis, dyspnoia and paresy. Sweating which begins at the neck becames unvariably so intense that the dying mice are so drenched as if they had just come out of a bath. Post mortem tetanism sets in immediately.

The animals with venom doses below the LD₅₀ showed a limited degree of sweating in the neck region only and recovered after two hours, with complete normalization within 4 to 5 hours.

On subcutaneous injections the symptoms of intoxication are the same as when the venom is administered intravenously. There enters, however, the symptomatology of pain as a new element which becomes evident by the irritability of the mice, their mutual aggressivity, disorderly leaps and shricks, until they are overcome by prostration and sudoresis, dyspneia and progressive paralysis. Death follows rapidly within 4 hours at the utmost. Any survivors after this time recover gradually and become normal already after 7 to 8 hours.

It is further shown that, at least with the so-called milky, viscous venom fractions, there is hardly any difference between the intravenous and

subcutaneous LD₅₀, contrary to what is observed with other animal poisons, as for example with venous from *Crotalus terrificus* or the bothropic snakes.

For determining the LD₅₀ the author used method described by Reed and Muench. Every batch of venom from the two species was submitted to not less than 24 evaluations, 12 by the intravenous and 12 by the subcutaneous route, between 1951 and May of 1953. The mice came from the animal rooms of the Instituto Butantan and had a weight of 20 g.

Without entering into a discussion about its nature, the dried venom was separated into 3 portions, one from the hyaline droplets, another from the opalescent drops and the third from the milky, viscous venom. Each of these 3 lots was injected intravenously and subcutaneously, giving the following LD_{50} per gramme mouse:

T. scrrulatus	intravenous	vubentaneous	venom type
	1,2-1,6 gammas 0,9-1,1 " 0,3-0,58 "	1,8-2,2 gammas 0,9-1,4 " 0,3-0,62 "	clear venom opalescent venon milky venom
T, bahiensis	2,0-11,0 gammas 0,9-2,0 " 0,5-0,65 "	4.0-25.0 gammas 2.0-4.0 " 0.7-0.9 "	clear venom opalescent venom milkf venom

From these results it may be concluded that: 1-the milky venom is the more active in both species, and its intravenous dose hardly differs from the subcutaneous one; 2- the venom of T. serrulatus is, on the whole, twice as active as that of T. bahiensis; 3- the subcutaneous LD_{50} of the venom from the clear, hyaline fraction (which is more common in T. bahiensis) is usually twice as large as the intravenous LD_{50} , this venom fraction, especially in the T. bahiensis, being subject marked variations of intensivity (4 to 25 gammas subcutaneously or 2 to 11 gammas intravenously).

It is further shown that the difference in the LD_{50} is smaller in T. serrulatus than in T. bahiensis. There is hardly any difference in the so-called milky fractions of the two species. The different activity of scorpion venom, particularly in T. bahiensis, may be attributed to the so-called hyaline clear fraction.

Considering the maximum, mean and minimum amounts which could be injected by the generally repeated stings of one of these scorpions and which had been calculated by the author, in another publication, as 3 mg. 0,3 mg and

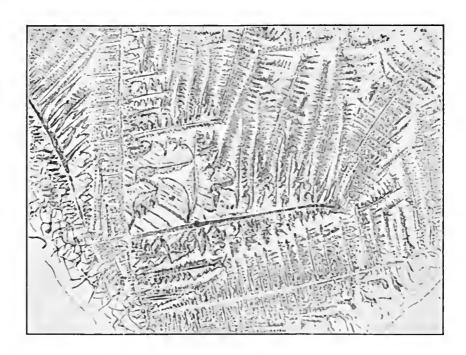
0 mg respectively, the conclusion may be drawn that in view of the LD_{50} these scorpions are able to kill 7 or 10 kg of mouse, keeping in mind that the human organism is even more sensitive.

Agradecimentos: Agradecemos aos auxiliares do Laboratório de Animais Peçonhentos do Instituto Butantan a valiosa colaboração. O sr. José Navas, as srtas. Laurinda Pucci e Luzia Seabra ajudaram na alimentação e na retirada das peçonhas dos escorpiões; a srta. Nicolina Pucca prestou eficiente colaboração nas pesagens e nas titulações das peçonhas e o sr. Francisco Rocha Nobre colaborou nas necrópsias e nos cortes histológicos dos animais mortos pelo veneno escorpiónico. Ao sr. Seixas, fotógrafo do Instituto, os nossos agradecimentos pelas fotomicrografias.

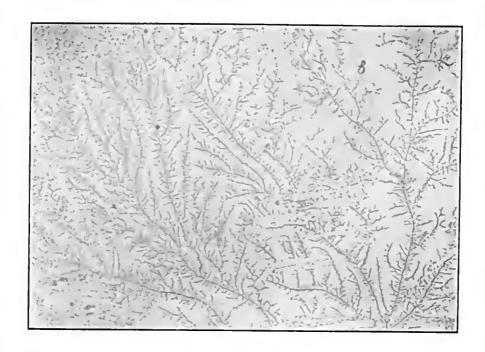
B1BL1OGRAFIA

- 1. Maurano, II. Do Escorpionismo, Tese Fac. Med. Rio de Janeiro, 1915.
- Brazil, V. Mem. afres. ao VI.º Congr. Brasileiro Med. e Cir., S. Paulo, 1907;
 Rev. Med. de S. Paulo 10: 385-390, 1907; Mem. Inst. Butantan 1: 47-52, 1918.
- Magalhães, O. de O Hospital 21: 709-723, 942; Mem. Inst. Oswaldo Cruz 21: 5-155, 1928; Anais Fac. Med. Belo Horizonte 4: 1-52, 1935; ibidem 1: 69-111, 1929.
 - Magalhaes, O. de & Tupinambá, A. O Hospital 17: 77-95, 1940.
 - Magalhāes, O. de & Guimarāes, E. Mem. Inst. Ezequiel Dias, Belo Horizonte, 3-4: 139-194, 1939-40.
- 4. Reed, L. J. & Muench, H. Amer. J. Hyg. 27: 493-497, 1938.
- 5. Martins, A. Vianna Brasil-Medico 57: 248-251, 1943.
- 6. Phisalix, M. & De Varigny Bull. Mus. Hist. Nat. 2: 67, 1866.
- 7. Tetsch, Chr. & Wolff, K. Biochem, Zeitschr. 290: 394-397, 1937.

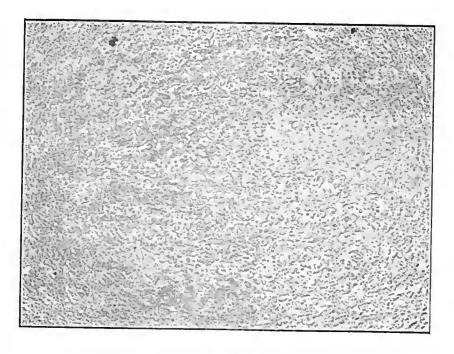




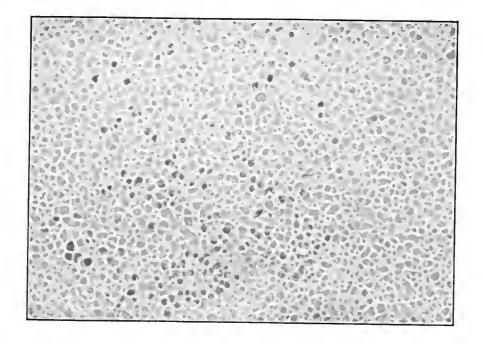
Fotomicrografia, 1: - T. bahiensis - Veneno hialino (300 vezes)



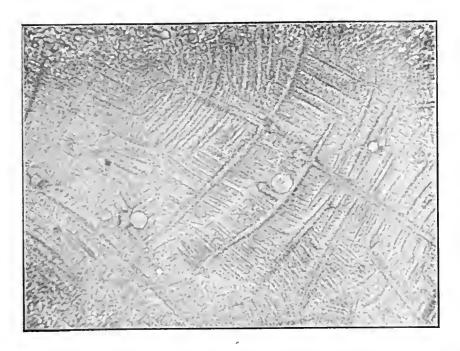
Fotemieregrafia, 2: T. hahiensis — Veneno hialino, esfreçaço — (300 vezes.)



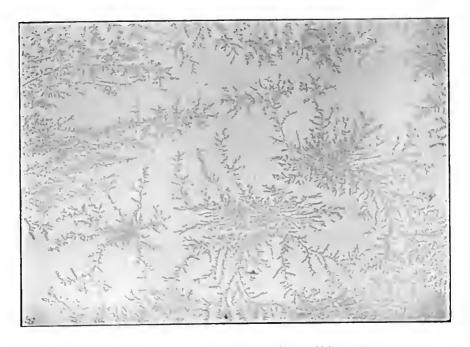
Fotomicrografia 3: - T. bahiensis - Veneno leitoso (300 vezes)



Fotomicrografia 4: - Veneno leitoso (900 vezes)



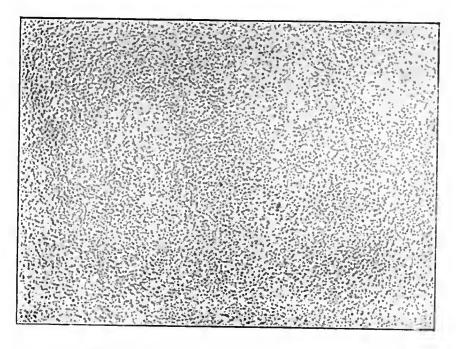
Fotomicrografia 5: - T. serrulatus - Veneno hialino (300 vezes)



Fotomicrografia 5: - T serrulatus - Veneno hialino (300 vezes)



Fotomicrografia 6a: — T. serrulatus — Veneno feitoso (600 vezes)



Foremierografia 6: - T. serrulatus - Venero leit so (900) vezes)

QUILÓPODOS, ARANHAS E ESCORPIÕES ENVIADOS AO INSTITUTO BUTANTAN PARA DETERMINAÇÃO

WOLFGANG BUCHERL

(Laboratóric de Zoología Médica, Instituto Butantan).

Nos últimos anos foi recebido pelo Instituto Butantan copioso material, conservado em meio alcoólico, para ser determinado, devolvendo-se as duplicatas (conforme a praxe) e retendo-se para as colecções do Instituto as restantes.

Antes de enumerarmos estas preciosas remessas, queremos consignar nossos agradecimentos aos seguintes remetentes:

Professor Dr. Wolfang Weyrauch, de Lima, Perú, que nos tem distinguido com repetidas remessas de Quilópodos e de escorpiões, de maneira que nos pudemos capacitar a julgar com maior acêrto sobre a natureza da fauna quilopódica e escorpiónica do Perú, particularmente dos Andes peruanos.

Dr. Helmut Sick, da Fundação Brasil Central, pelas remessas de material do Alto Xingú, particularmente de Chavantina, do Brasil Central.

Professores Paul Lédoux e Harald Sioli, do Instituto Agronômico do Norte, em Belém do Pará, pelos envios quase que contínuos de aranhas, escorpiões, quilópodos e escutigeromorfos.

Aos colegas Alphonse R. Hoge e José Manuel Ruiz que, em duas excursões científicas, promovidas pelo Instituto Butantan e chefiadas por eles ou pelo Sr. A. Hoge, têm enriquecido as colecções do Butantan com abundante material aracnológico, incluindo quilópodos, escorpiões, aranhas, miriápodos, opiliões, etc.., provindo da região amazônica, desde a fóz do rio até a Colômbia, e das Guianas Francesas.

Professor Dr. Otto Schubart pelo abundante material, recolhido nos arredores de Pirassununga, Estado de São Paulo.

Família *Urban*, da Capital de São Paulo, que, com incansável esfôrço, tem trazido pessoalmente ao Instituto quilópodos, aranhas, escorpiões, colhidos tanto em Perdizes, Capital de São Paulo, como em Carapicuiba, dos arredores de São Paulo, de Cocaia e da Ilha de São Sebastião.

Entregue para publicação, 27.VIII.53.

Revmo. Padre Daniel, do Colegio San José, de Medellin, Colombia.

Professor Dr. Max Biraben, de Buenos Aires, Argentina, pela remessade volumoso material quilopódico.

Prof. Dr. Navier Nietto, México, pelo envio de numeroso material escorpionico.

Professor Dr. Max Vachon, do Museu de História Natural de Paris, que tem enviado escorpiões da Argélia e de Marrocos.

Dr. A. Rodrigues Gomes, pelo envio de escorpiões da Colômbia.

Professores Drs. José Lacerda de Araujo Feio e José C. M. Carvalho que não somente puseram a nossa disposição o material do Museu Nacional, mas tämbem nos possibilitaram o seu estudo no referido Museu.

Dr. Avelino Barrio, do Instituto Malbran, Buenos Aires, Argentina, pela remessa de aranhas e quilópodos.

Professores Luis M. Carbonell e G. Marcuzzi, de Caracas, Venezuela pela valiosa remessa de material quilopódico, escorpiônico e aracnológico da Venezuela, a ser estudado à parte.

LISTA DO MATERIAL

- 1) COLEÇÃO ENVIADA PELO PROF. WOLFGANG WEYRAUCH, DE LIMA, PERÚ, EM 20 DE MARÇO DE 1951:
- N.º 12.009: Otocryptops ferrnginens souenpi Bücherl, 1943.

Procedência: — Tarma, Perú.

W. Weyrauch leg. em 1-12-42, nas encostas dos Andes, a 3.000 m de altura.

3 machos e 2 fêmeas (3 exemplares devolvidos).

N.º 12.016: — Otocryptops ferruginens soneupi Bücherl 1, 1943

2 exemplares (devolvidos)

Brasilophora trimarmorata Bücherl, 1950

2 exemplares (devolvidos)

GEOPHILOMORPHA

2 exemplares (não determinados)

Otostigmus amazonac Chamberlin, 1914

1 exemplar (devolvido)

Procedencia: - Margens do rio Chusgon, afluente ocidental do Marañon; nos arredores de Huamachuco, a 2.300 m de altura. W. Weyrauch legit.

N.º 12.010: - Cormocephalus impressus glabrus Bücherl 1, 1950 4 exemplares (devolvidos)

Otostigmus bürgeri Attems, 1903

Procedência: — Andahuaylas, Perú.

W. Weyrauch legit em 13-12-40, a 3.100 m de altura.

N.º 12.009: - Otocryptops ferrugineus soucupi Bücherl 1, 1943 8 exemplares (Col. Inst. Butantan)

Cormocephalus impressus glabrus Bücherl, 1950

1 exemplar (devolvido)

Otostigmus bürgeri Attems, 1903

1 exemplar (devolvido)

Procedência: — Tarma, Perú.

W. Weyrauch legit a 3.300 m de altura.

Sem N.º: — Brasilophora trimarmorata Bücherl, 1950 1 exemplar (devolvido)

Procedencia: — Oxapampa, Perú.

W. Weyrauch legit em 1941, a 1.800 m de altura.

N.º 12.020: — Otostigmus pococki Kraepelin, 1903

1 exemplar (devolvido).

Procedencia: - Huacspistana, ao longo do rio Chano.

W. Weyrauch legit em Junho de 1942, a 1.800 m de altura.

Comentário: — A borda posterior das coxopleuras é redonda, sem o apêndiceobtuso, descrito por Kraepelin, em 1903.

N.º 12.027: — Cormocephalus impressus glabrus Bücherl, 1950

5 exemplares (1 devolvido e 4 na col. do Inst. Butantan,

N.º 653)

Procedência: — Cajamarca, Perú.

W. Weyrauch legit a 2.800 m de altura.

Comentário: - Os exemplares se apresentam inteiramente verdes, inclusiveantenas e pernas. Os 4 dentes das placas do coxosternum forcipular são pequeníssimos e unidos na base, salientando-se apenas as pontas. Quantoaos outros caracteres morfológicos, há completa concordância com Corm. impr. glabrus, descrito em 1950 e procedente da Cordilleira Azul, Perú.

Os valores mesurais dos artículos da última perna são as seguintes: --Prefemur igual à tíbia ou ao último tergito; femur mais longo que o prefêmur e fêmur com excavação dorsal em forma de fossa.

112

N.º 12.018: — Otocryptops ferrugineus soucupi Bücherl, 1943 2 exemplares (1 devolvido).

> Procedència: — Oxapampa, Perú. W. Weyrauch legit em 20-9-1948, a 1.600, de altura.

N.º 12.030: — Newportia monticola Pocock, 1890 2 exemplares (1 devolvido)

> Procedència: — Hacienda Chaquil, perto de Cajamarca, Perú. W. Weyrauch legit em Março de 1942, a 3.150 m de altura.

N.º 12.005 — Otocryptops ferrugineus soucupi Bücherl, 1943 3 exemplares (na coleção do Inst. Butantan, n.º 656) Procedência: — Oxapampa, Perú. W. Weyrauch legit, em 1-4-41.

N.º 12.008: — Rhysida celeris andina, subespecie nova

Procedência: — Vale de Chandemayo, Perú. W. Weyrauch legit em 1. de Abril de 1942, a 200 m de altura.

Exemplar-tipo: — Colecção do Inst. Butantan, n.º 657.

Diagnóstico: — Comprimento total até 65 cm. Cabeça, tronco e pernas amarelos; tergitos lisos, brilhantes. Placa cefálica, sem sulcos, com a base coberta pelo 1.º tergito. Antenas com 20 artículos, sendo os primeiros 2 basais completamente desprovidos de pêlos e o 3.º provido de pêlos apenas no terço distal.

Placas dentárias (Fig. 1) de estrutura morfológica irregular (parece tratar-se de anomalia). À esquerda, com 5 dentes, sendo o 5.º — o interno — bipartido na ponta, de maneira que seriam 6 dentes.

A placa direita é menor que a esquerda e não apresenta dentes. Ambas desprovidas dos sulcos basais, mas dotadas de uma corda, que nasce dentro de um póro. Coxosternum liso, sem sulco mediano.

Tergitos com dois sulcos paramedianos completos desde o 6.º. A partir do 3.º, já com dois curtos sulcos posteriores. Sòmente o 21.º tergito com carenas laterais nitidamente formadas; 20.º sem carenas; do 16.º ao 19.º com fracas carenas laterais anteriores. Os tergitos precedentes sem carenas.

Todos os esternitos com 2 curtos sulcos paramedianos anteriores, atingindo apenas um quarto do comprimento da respectiva placa; 21º esternito liso, -sem sulco.

Com 2 esporões tarsais nas pernas 1 a 19; apenas 1 esporão no 20.º par.

21º segmento do tronco com apófise coxopleural bem curta, de ponta cônica, com apenas 1 espinho pequeno na mesma; sem espinhos laterais.

Prefémur do último par de pernas sem espinhos. Última perna tão longa quanto os 5 últimos segmentos do tronco juntos apresentando as seguintes medidas: prefémur-5, 3mm; fémur-5, 5mm; tibia-4, 9 mm; tarso 1°-4, 4mm; tarso 2°-1,3 mm; garra terminal-0, 8 mm.

Diagnóstico diferencial entre Rhysida celeris celeris (Hum. & Sauss.), 1870 e Rh. nuda (Newport), 1845:

A presente sub-espécic é amarela, enquanto que as outras duas apresentam duas côres, a saber — o tronco em tonalidades azuis ou verde-oliváceas e pernas verde amareladas.

A morfologia das placas dentárias não poderá ser considerada pelas razões acima expostas.

Em Rhysida n. nuda existem carenas laterais somente no 21º tergito e em Rh. celeris celeris elas já começam a existir geralmente desde o 5.º ao 10º tergito.

Apófise coxopleural do ltimo segmento com 2 espinhos em ambas as subespécies, com 1 só em Rh. c. andina.

19.º par de pernas com 2 esporões tarsais na nova sub-espécie; com 1 só nas 2 outras.

Último par de pernas muito longas na subespécie nova, bem mais curtas tras duas já conhecidas.

N.º 12.006: — Otocrypters ferrugineus soucupi Bücherl, 1943 2 exemplares (devolvidos)

Procedencia: — Canta, Perú.

W. Weyrauch legit em 26 de Janeiro de 1939, a 3.100 m de altura.

N.º 12.007: — Otoryptops ferrugineus soneupi Bücherl, 1943 5 exemplares adultos e 1 filhote (devolvidos).

> Procedència: — Recuay, perto de Huaraf. W. Weyrauch legit em Maio de 1941, a 3.400 m de altura.

N.º 12.015: — Cormocephalus impressus glabrus Bücherl, 1950 6 exemplares (3 devolvidos).

Procedência: — Huamachuco, ao longo do rio Chusgon, afluente de Marañon.

Otostignus scabricauda (Humb. & Sauss.), 1870. 2 exemplares da mesma procedência (na coleção do Inst. Butantan). Diagnóstico: — Os esternitos apresentam 6 escavações redondas, pequenas, 3 anteriores e 3 posteriores — o que viria aproximar ou mesmo identificar estes exemplares com a espécie O. rex, Chamberlin, 1914. Entretanto, O. rex, passa, como já afirmara C. Verhoeff, a constituir apenas a fêmea de Otostigmus scabricanda. (Ver — "Quilópodos da Venezuela" — Mem. Inst. Butantan, 22-193, 1950).

Sem N.º: - Newportia paraensis Chamberlin, 1914?

1 exemplar (Colecção do Inst. Butantan).

Procedència: — Contumaza, Perú. W. Weyrauch legit a 2.300 m de altura.

Diagnóstico: — Na face ventral do prefêmur, do último par de pernas, existem 4 espinhos obtusos, robustos, sendo o basal o maior; no fêmur há 2 espinhos. O 2.º tarso consta apenas de 2 artículos, não havendo garra terminal.

Na placa cefálica há 2 curtos sulcos posteriores. O 1º tergito apresenta um sulco em forma de "W", que não progride além da fossa semicircular.

Os poucos artículos do último segundo tarso aproximam este exemplar da espécie N. paraensis. Entretanto, este diagnóstico não é seguro, devendo esperar-se maior número de exemplares para elucidar bem a espécie.

N.º — 10.062: — Otohryptops ferrugineus sourupi Bücherl, 1943. 4 eexmplares (2 devolvidos)

> Procedència: — Huaraz, no vale de Santa. W. Weyrauch legit em Fevereiro de 1942, a 2.800 m de altura.

Diagnóstico: — Coxosternum forcipular com 2 dentes laterais pontudos (como em parcespinosus ou em riveti) e no meio um maciço dentário agudo também, mas muito menor do que em soncupi. Último esternito bem mais longo do que largo, enquanto que em soncupi esta placa é mais larga que longa.

Apófise das coxopleuras longa, excedendo muito o nível pleural-o que distingue estes exemplares nitidamente de soucupi.

A identificação definitiva fica condicionada ao recebimento de um maior número de exemplares.

Sem N.º (com rótulo impresso): — Rhysida celeris celeris (Humb. & Sauss.), 1870?

2 exemplares, filhotes, bastante danificados.

Procedència: Vale Chanchamayo, Perù. W. Weyrauch legit, em Maio de 1940, a 3.000 m de altura.

O diagnóstico não foi possível ser feito com segurança por causa da má conservação dêste lote.

N.º 12.013: — Otostigmus amazonae Chamberlin, 1914.

3 exemplares (2 devolvidos).

W. Weyruach legit em 1939, num ninho da Aha sexdens.

Procedência: — Matucana, ao longo do rio Rimae.

- Diagnóstico: Apenas os dois primeiros pares de pernas com 2 esporões tarsais, enquanto que em O. amazonae há 2 esporões nos 5 primeiros pares de pernas. Quanto ao resto, completa concordância com esta espécie.
- N.º 12.029: Otostigumus scabricauda (Humb. & Sauss), 1870.
 1 exemplar (Colecção do Instituto Butantan N.º 663).
 Procedência: Entre Cajamarca e Celendim, sóbre a cordilheira.

W. Weyrauch legit a 2.300 m de altura.

N.º 12.028: — Otocryptops ferrugineus soucupi Bücherl, 1943.
6 exemplares (2 devolvidos, 4 na Col. do Inst. Butantau, N.º 664).

Procedència: — Entre Cajamarca e Celendim, Perú. W. Weyrauch legit em Março de 1942, a 3.600 m de altura.

2) COLEÇÃO ENVIADA PELO PROFESSOR MAX VACHON, DO MUSEU DE HISTÓRIA NATURAL DE PARIS, COMPREENDENDO ESCORPIÕES DA ÁFRICA (enviada ao Instituto Butantan em Fevereiro de 1951):

Colecção escorpiônica do Instituto Butantan

- N.º 612-613: Androctonus australis (L.), 1758 3 exemplares

 Algeria Meridional
 Edmond Sergent, Instituto Pasteur
 da Algeria, 16-11-50.
- N.º 615-617: Androctonus amoreuxi (Sav.). 1827 3 exemplares

 El Galea, Algeria
 Edmond Sergent, 16-II-50.
- N.º 618: Androctonus hoggarensis (Pallary), 1929 1 exemplar Air-Africa Oriental Francesa, 16-11-50.

Marrocos Central Edmond Sergent, 16-II-50.

116 ° °	UILÓPODOS, ARANHAS E ESCORPIŌES ENVIADOS AO INSTITUTO BUTANTAN PARA DETERMINAÇÃO	
N.º 620: — Ad	roctonus aeneas aeneas C. L. Koch, 1839	1 exemplar
	Bon Sdada, Algeria Edmond Sergent, 16-11-50.	
N.º 621-623: —	- Buthus atlantis atlantis Pocock, 1889	3 exemplares
	Magador-Marrocos, 16-11-50.	•
N.º 624: — Bu	thus maroccanus Birula, 1903	1 exemplar
	Rabat, Marrocos Edmond Sergent, 16-11-50.	
N.º 625-629: —	- Buthus occitanus (Amoreux), 1789	5 exemplares
	Da região do Grande Atlas, Marrocos — 16-11-50.	
N.º 630: — Or	thochirus innesi Simon, 1910	1 exemplar
	Ouargla, Algeria Edmond Sergent, 16-11-50.	
N.º 631: — Co	mpsobuthus werneri (Birull), 1908	1 exemplar
	Niafunke, Africa Oriental francesa, 16-11-50.	
N.º 632-633: —	- Leiurus quinquestriatus (Hempr. & Ehrenb.), 1829	2 exemplares
	Egito superior, 16-11-50.	
N.º 634: — Bu	athacus arenicola (Simon), 1885	1 exemplar
	Sul de Tunisia, 16-11-50.	
N.º 635: — Eu	uscorpius flavicaudis (de Geer), 1778 Ilha de Corsica, 16-11-50.	1 exemplar
N.º 636-637: —	- Scorpio maurus L. 1758	2 exemplares
	Norte da Tunisia e Marrocos, 16-11-50.	
•	ECÇÃO, ENVIADA PELO PROFESSOR WOLFANG Ĵ, em 1. de Outubro de 1951:	WEYRAUCH.
•	ESCORPIÕES	
N.º 10.067: —	Tityus bolivianus ecuadorensis (Kraepelin), 189 6 exemplares (1 devolvido)	5.
	Procedência: — Lima, Perú, a 2.000 m de altura	

N.º 10.269: - Bothriurus coriaceus Pocock, 1893 (1 exemplar devolvido).

N.º 10.066: - Tityus bolivianus ecuadorensis Krpln., 1895 (devolvido).

N.º 10.245: — Hadruroides lunatus (L. Koch), 1867. 32 exemplares (2 devolvidos).

Procedência: — Toda a região andina de Perú.

N.º F. C. 835: — Tityus paraguayensis Kraepelin, 1895. 2 exemplares (1 devolvido)

Procedencia: - Chamchago, Perú.

N.º F. C. 825: — Tityus bolivianus ecuadorensis Krpln., 1895. 1 exemplar (devolvido).

N.º 824: — Tityus trivittatus dorsomaculatus (Lutz & Mello), 1922.

1 exemplar (devolvido).

N.º 828: — Bothriurus paessleri Kraepelin, (1910). 1 exemplar (devolvido).

N.º 725: — Brachistosternus holmbergi Carbonell, 1923. 4 exemplares macho e 4 fêmeas. Procedência: — São Lourenço, Perú. W. Weyrauch legit

QUILÓPODOS

Otocryptops ferrugineus soucupi Bücherl, 1943. 1 exemplar (Col. Inst. Butantan N.º 676).

Procedência: — Tarmatambo, Perú.

Otoeryptops ferrugineus soueupi Bücherl, 1943.

1 exemplar (devolvido).

Procedência: Paccha, ao longo do rio Manta, perto de Oroya, Perú:. W. Weyrauch legit, em 15 de Agosto de 1951, a 3.800 m de altura.

N.º 10.246: — Otostigmus amazonae Chamb., 1914.

5 exemplares (2 devolvidos, 3 na colecção quilopódica do-Butantan)

Procedência: — Quebrada Verde, perto de Lima, Perú. W. Weyrauch legit em Agosto de 1949.

Diagnóstico (Conf. N.º 12.013): — 2 esporões tarsais nos primeiros 5 pares de pernas. Esternitos com 2 sulcos anteriores que atingem a metade de cada

placa (como em *amazonae*), mas no meio dêstes uma depressão raza maior e mais 3 depressões muito leves ao longo da borda posterior de cada esternito (fig. 2) — o que não se verifica em *O. amazonae*. Todo o resto, entretanto, igual à *O. amazonae*.

Sem N.º: — Cormocephalus impressus peruanus subsç.

Tipo: — Coleção quilopódica do Instituto Butantan, N.º 683.

Procedència: — Cerro de Pasco, perto de São Rafael, Perû. W. Weyrauch legit em Outubro de 1946, a 3.800 de altura.

Diagnóstico: — Comprimento ao redor de 50 mm. Todo o tronco, inclusive as pernas verde oliva. Antenas com pelinhos amarelo-doirados.

Últimas pernas com os artículos sempre menores de frente para tras. Apenas as garras terminais quase das dimensões dos 2 tarsos juntos.

Placa cefálica com dois sulcos posteriores, divergentes, que mal atingem a metade posterior (fig. 3).

Antenas num lado com 17 e no outro com 16 artículos, sendo os primeiros 5 basais largos e lisos, esverdeados. O 5º já apresenta pelinhos doirados na parte distal da iace ventral; o 6º e o 7º também já têm pelinhos esparsos no lado dorsal.

Coxas forcipulares (tig. 4) com 2 sulcos, unidos na frente quase em ângulo agudo e que atingem mal a metade da placa; divergentes atras e atravessados horizontalmente por leves estrias sulcais, interrompidas em seu percurso. Placas dentárias com um bloco interno de 3 dentes soldados e mais um dente menor, externo, isolado.

1º ao 20º tergito com 2 sulcos paramedianos completos, mas sem quilha no permeio. 21º tergito com sulco mediano nítido. Sòmente êste com carenas laterais nítidas. Desde o 14º ao 20º existem carenas laterais nitidas, mas estas não atingem nunca a margem posterior dar placas.

Esternitos 2-20 com 2 sulcos paramedianos e no meio uma leve excavação, melhor visível nas placas anteriores. 21º esternito (fig. 5) com borda posterior em curva e com depressão central muito leve. Coxopleuras do último segmento (fig. 5) com borda posterior apenas levemente protraída em curva, apresentando apenas um espinho muito pequeno perto da ponta. Sem espinhos laterais. A área dos poros não alcança nem a margem superior, nem a posterior.

Prefêmur das últimas pernas com O a 2 espinhos muito pequenos no local do "espinho do canto" (Eckdorn). Sem espinhos nos lados ventral e interno.

Tergitos apenas com poros, mas não granulados; lisos. Garra terminal do último par de pernas bem mais longa do que o 2º tarso.

Sua face ventral afinada em lâmina cortante.

Prefêmur, fêmur e tibia destas pernas com escavação dorsal, completa e profunda no fêmur, bastante rasa na tibia.

Diagnóstico diferencial: — Cormocephalus impressus impressus Por. 1876:

Com 2 sulcos na placa cefálica que atingem quase a margem anterior;
6-7 artículos basais das antenas sem pêlos; Coxosternum forcipular com 2 sulcos divergentes atras, mas completos, atravessando toda a placa; um só sulco horizontal no mesmo local, também completo, indo de margem a margem; com leve quilha mediana no meio dos 2 sulcos paramedianos dos tergitos; carenas laterais dos tergitos desde o 9°; com 2 espinhos na ponta das coxopleuras; prefémur das últimas pernas com 2-6 espinhos ventrais e 2 no lado interno.

C. i. i. var. neglectus (Chamb.), 1914: jà o 3° e 4° articulos basais das antenas apresentam alguns pêlos; todo o resto igual à impressus impressus.

Cormocephalus impressus glabru Bücherl, 1950: — Preiêmur e fêmur das últimas pernas do mesmo comprimento; 2º tarso mais curto que o 1º; coxosternum forcipular sem sulcos longitudinais ou transversais; com quilha leve no permeio aos 2 sulcos paramedianos dos tergitos; sem depressão mediana, anterior, entre os 2 sulcos dos esternitos; com espinhos pequenos na ponta das coxoplenras; com 6 espinhos ventrais em 3 filas no preiêmur 21º, na face ventral e mais 1 na interna.

Sem N.º: — Otocryptops ferrugineus soneupi Bücherl, 1943.

I exemplar (Col. Butantan N.º 684).

LITHOBIOMORPHA

3 exemplares (Col. Butantan).

Cormocephalus impressus glabrus Bücherl, 1950.

3 exemplares (2 devolvidos).

Procedència: — Canta, ao longo do rio Chilon, Perú. W. Weyrauch legit.

Sem N.º: — Newportia monticola Pocock, 1890.

I exemplar (Col. Butantan N.º 687).

Procedencia: - Canta, Perú.

W. Weyrauch legit, a 2.800 m de altura.

É a primeira vez que se assinala a presença desta espécie no Perú, sendo conhecida até agora apenas da Colombia, do Ecuador e da Costa Rica.

Diagnóstico: — Coincide em tudo com monticola, com exepção do seguintez O 2º tarso das pernas ambulatórias não é bem distinguível do 1º; principalmente nas pernas anteriores; atras se torna mais nítida a separação. Tarso 2 do último par de pernas constando de 7 artículos distintos, sendo o 1º e o último do mesmo comprimento e o 3º e 4º mais curtos. 1º e 2º tarso destas pernas da mesma espessura. Campo poroso com poros grandes, nítidos, bem separados, não alcançando dorsalmente o tergito, mas no lado ventral cobertos pelo esternito. Apêndice coxopheural longo, pontudo, com robusto espinho terminal. Prefêmur das últimas pernas com 4 espinhos enfileirados no lado ventral, sendo os basais os mais robustos. Sem outros espinhos. Fêmur com 2-3 espinhos na face interna.

N.º: — 837 — F. C. — Otostigmus muticus Karsch, 1884. 20 exemplares (14 Butantan N.º 689; 6 devolvidos).

> Procedència: — Quebrada Verde, nos arredores de Lima, Perú. P. Aguilar legit, em Maio de 1950.

- Diagnóstico: Coincide com O. muticus, com excepção do seguinte: Tergitos posteriores não completamente lisos; ao longo das margens laterais "enrugados", com leve quilha mediana; carenas laterais já desde o 6º tergito. Os sulcos dos esternitos atingem tres quartos das placas e já estão presentes mesmo nos esternitos anteriores. Na área mediana uma depressão leve; com 2 esporões tarsais nos primeiros 4 a 6 pares de pernas (Cabe aqui retificar um senão da chave sistemática de Attems) (Das Tierreich 54. Lief.)
 - 2. SCOLOPENDROMORPHA, Wien, 1930), à pagina 137, N.º 68, e que está em discordância com o que escreve o mesmo autor à pagina 163, onde descreve a O. muticus.

Sob o referido N.º 68 lê-se: — "Somente o 1º e 2º par de pernas com 2 esporões tarsais. Somente o 21º tergito com carenas laterais. Sulcos dos esternitos atingindo dois terços das placas — O. muticus (Perú)." Na página 163. é descrita minuciosamente esta espécie, como segue: — "Os primeiros 5-6 pares de pernas com 2 esporões tarsais. Carenas laterais dos tergitos já desde o 9º ou o 14º tergitos."

Cabeça vermellio-marrom, destacando-se êste colorido do tronco amarelado.

Scolopendra armata amancalis Bücherl, 1943.

1 exemplar (Butantan N.º 690.

Procedência: - Quebrada Verde, perto de Lima, Perú.

N.º 10.085: - Brasilophora trimarmorata Bücherl, 1950.

2 exemplares, machos (1 devolvido).

Procedência: — Santa Rosa, ao longo do rio Chinchipe, Perú. W. Weyrauch legit, a 1.600 m de altura, em Julho de 1947

Diagnóstico: — Os dois exemplares vieram em condições de conservação um tanto precárias, de maneira que sua determinação não está de todo segura, ainda que não reste dúvida pertencerem ao gênero Brasilophora.

Os primeiros 9 artículos do flagellum primum das antenas mais longos do que largos. Daí em diante são tão longos quanto largos e a seguir mais largos do que longos, havendo, entretanto, um ou outro artículo no permeio mais longo que largo.

Nodale e postnodale presentes. Aculeos dos maxilares: — 2+4+2.

Os 2 tarsos das pernas estão separados por 2 acúleos.

I.º par de pernas com 20 "estiletes tarsais" (Tarsalzapfen), não alternados, isto é, ocupando em illeira dupla, o lado ventral dos artículos tarsais a começar do 10º basal até ao 30º distal, restando apenas 6 artículos apicais sem êstes estiletes.

Otostignus untiens Karsch, 1884.

2 exemplares (devolvidos).

Pricedència: — Oxapampa, Perú. W. Weyrauch legit, a 1.700 m de altura

Otocryptops ferrugineus sonenpi Bücherl, 1943.

l exemplar (devolvido).

Procedència: — Oxapampa, Perú. W. Weyrauch legit.

Otocryptops ferrngineus soncupi Bücherl, 1943.

1 exemplar (Coleção quilopódica do Butantan Nº 691).

Procedència: — Tingo Maria, Perú. W. Weyrauch legit.

Otostiguus muticus Karsch, 1884.

13 exemplares (3 devolvidos e 10 filhotes na coleção do Butantan).

Procedência: — Quebrada Verde, perto de Lima, Perú.

Pedro Aguilar legit em Junho de 1950.

F. C. 839: — Otostigmus sp.

exemplar (colecção do Inst. Butantan, Nº 693).
 Procedência: — Tingo Maria, às margens do rio Huallaga, Perú.
 Ortiz de la Puente legit, como membro da Expedição da UNESCO ao Huallaga, a 670 m de altura, em 18 de Julho de 1948.

Diagnóstico: — Todo o exemplar amarelo oliváceo. Comprimento até 97 mm. (sem antenas e últimas pernas). Antenas com 17 artículos, dos quais os primeiros 2 sem pêlos e o 3º piloso já nos dois terços distais. Antenas longas alcançando a margem posterior do 3º segmento do tronco.

21º esternito com depressão longitudinal mediana, completa e com margem posterior bilobada.

A começar do 5º tergito existem 2 sulcos paramedianos completos, muito leves, mais nítidos na frente que atras. Em alguns tergitos êstes sulcos estão interrompidos no meio. A partir da segunda metade do tronco, há nos tergitos quilhas seriadas longitudinais, cobertas de espinhos tambêm seriados. As quilhas são leves e pouco salientes; entretanto, nos últimos 4 tergitos, vêm-se nitidamente 3 quilhas entre as dobras longitudinais. Sômente o 21º tergito com carenas verdadeiras; a partir do 4º tergito pseudocarenas, isto é, as margens laterais apresentam bordos salientes a simular carenas. Os primeiros 4-6 pares de pernas com 2 esporões tarsais; do 7º ao 20º apenas 1;21º sem nenhum.

Esternitos com 2 sulcos muito curtos na margem anterior. Na segunda metade de cada placa há uma leve depressão, muito grande e dentro desta 3 excavações pequenas, oviformas, perto da margem posterior.

Medidas das últimas pernas: prefémur 6.3 mm; fémur 7.5 mm; tíbia 6,5 mm; tarso 1-6, 2 mm; tarso 2-3,0 mm.

4) MATERIAL ENVIADO AO INSTITUTO BUTANTAN PELO DR. HELMUT SICK, DA FUNDAÇÃO BRASIL CENTRAL, em 8 de Maio de 1951:

Acanthoscurria geniculata (C. Koch), 1842.

7 machos, 2 fêmcas, adultos e 2 filhotes (na Coleção aracnológica do Institituto Butantan .º 2603-2.612).

Procedència: — Jacaré, no Alto Xingů, Mato Grosso, ao oeste da Serra do Roncador.

Remetente: - Dr. Helmut Sick, da Fundação Brasil Central.

Acanthoscurria geniculata (C. Koch), 1842.

1 macho (Butantan N.º 2.609).

Procedência: — Chavantina, às margens do Rio das Mortes, M. Gr. Dr. Helmut Sick legit cm Julho de 1950.

Eupalaestrus tennuitarsus Bücherl, 1947.

1 exemplar (Nº 2.613 da coleção do Butantan).

Procedência: — Teles Pires, no Alto Tapajós, ao noroeste da Serra da Chapada, Mato Grosso.

Dr. Helmut Sick legit, em Agosto de 1950.

Brasilophora trimarmorata Bücherl, 1950.

1 exemplar.

Procedència: — Chavantina. H. Sick legit em Outubro de 1946. .

Rhoda calcarata carvalho Bücherl, 1941.

1 exemplar (Nº 651 da colecção quilopódica do Butantan).

Procedència: — Chavantina. Helmut Siev legit, em Dezembro de 1946.

5) MATERIAL DO INSTITUTO AGRONÔMICO DO NORTE, BELEM, PARÁ:

a) Remessa de 4 de Maio de 1951:

Scolopendra viridicornis viridicornis Newp., 1844 — 1 exemplar;

Brasilophora trimarmorata Bücherl, 1950 — 1 exemplar;

Plexippus paykulli (Audouin), 1827 — 4 exemplares.

Proj Paul Ledoux legit em Março de 1951, ao redor do 1. A. N., Belém do Pará.

b) Remessa de 3 de Agosto de 1951:

Tityus paraguayeusis Kraepelin, 1895 2 exemplares Isometrus maculatus (De Geer), 1778 1 exemplar Tityus discrepaus (Karsch), 1879 2 exemplares Tityus amazonicus Giltay, 1928 1 exemplar Avicularia avicularia variegata F. Cambrdige, 1895 2 exemplares.

Todo o material foi conservado nas colecções do Instituto Butantan.

Procedència: — 1.A.N., Belém, Pará, Brasil Professor aul Ledoux legit em Março de 1951.

Material conservado nas Colecções do Instituto Butantan.

Proi. Paul Ledoux legit em 1951, nos arredores de Belém, Pará.

c) Remessa de 25 de Setembro de 1951:

Capturado por P. Ledoux, nos arredores de Belém, Pará.

d) Remessa de 25 de Outubro de 1951:

Ctenus griscus Keyserling. 1891 2 machos

Hasarius adamsoni (Audonin), 1827 1 exemplar Avicularia avicularia L., 1758 1 exemplar

Brasilophora trimarmorata Bücherl. 1950 1 exemplar

Material conservado nas colecções do Instituto Butantan.

Prof. Paul Ledoux legit, nos arredores de Belém, do Pará.

e) Remessa de 15 de Novembro de 1951:

Do lote faziam parte mais 25 aranhas verdadeiras, pequeníssimas, de gêneros diferentes, não determináveis com segurança.

Procedência: — Arredores de Belém, do Pará, Brasil. Prof. Paul Ledoux legit.

f) Remessa de 21 de Junho de 1952:

Procedència: — Belém do Pará, Brasil. Prof. Paul Ledou legit, no I.A.N.

Material trazido ao Butantan pelo prof. Moreira.

g) Remessa de 12 de Janeiro de 1953:

Remetente — Dr. Harald Sioli, Instituto Agronómico do Norte, Belém do Pará, Brasil,

Colhido por H. Sioli, em 1952, nos terenos do IAN, Belém, Pará.

Vectius niger (Simon), 1880 1 exemplar.

Colhido em Maio de 1951, por H. Sioli, em Belém.

Otostigmus amazonae (OTOSTIMGINAE), Cchamberlin, 1914, 2 exemplares.

(colhidos por H. Sioli nos terrenos do IAN, Belém, Pará.

Pseudidiops sp.

Exemplar apanhado por H. Sioli, em Março de 1952, nos terrenos do IAN, Belêm do Pará,

Caracterização: — "Tarsos desprovidos de tufos subungueais de pêlos de sustentação. Tarsos com 3 unhas; as 2 maiores apenas com i dente, mas tão grande quanto a 3.ª unha. Lábio móvel, separado do esterno por sutura nitida; fiandeiras curtas: queliceras com rastelo."

Esta caracterização coloca a presente caranguejeira claramente na familia CTENIZIDAE, formada de espécies terricolas.

"8 elhos, formando 2 grupos distintos e distantes, 2 colocados na borda anterior da fronte e 6 dispostos em 2 filas num comoro."

Esta separação em 2 grupos oculares identifica o exemplar como pertencente à subfamilia IDIOPINAE.

"Os 2 olhos laterais, anteriores se acham colocados igualmente sôbre um tubérculo bem elevado, bilobado em frente, com franca posição anterior dos mesmos."

O cômoro ocular anterior, bilobado e elevado, é característico do gênero *Pseudidiops*, Simon, 1889.

Refere C. Mello-Leitão, em 1923, que desconhece êste gênero em natureza, fornecendo, em seguida, apenas a tradução da espécie *Pseudidiops rostratus* (Cambridge), 1889, aliás mal delineada pelo autor e tida até 1923 como a única espécie brasileira do gênero.

Cremos, portanto, ser útil, fornecer do exemplar de Belém uma caracterização morfológica mais detalhada:

"Lábio apenas com 10 cúspides marginais anteriores e mais 9 na parte central, distal (fig. 6). Lábio nitidamente mais largo que longo, com a frente redonda. As cúspides centrais maiores.

Ancas dos palpos inteiramente cobertas por numerosas cúspides (fig. 6), sendo maiores as anteriores, bem mais avantajadas ainda do que as maiores do lábio.

Esterno piloso, com as margens laterais enegrecidas, tão longo quanto largoe com 2 pares de sigilas sub-marginais, correspondentes ao 1.º e 2.º par de pernas e equidistantes da margeni (fig. 6).

Rastelo das queliceras bastante proeminente, terminando em 5 pontas, formadas por grupos de espinhos robustos.

Olhos laterais anteriores um pouco maiores que os médios anteriores, situados num comoro próprio, tão elevado quanto o dos outros 6 olhos e bitido, assentando-se cada ólho numa saliência própria (iig. 7). Olhos laterais posteriores e médios anteriores aproximadamente com as mesmas dimensões; os médios redondos e os laterais ovais. Médios posteriores quase 3 vezes menores que os laterais posteriores, contiguos a êstes (separados menos de 1 diâmetro). Uma linha imaginária, reta, tangente á borda anterior dos médios posteriores passaria no meio dos laterais posteriores. Segundo comoro ocular mais largo que longo (fig. 7).

Cefalotorax côr de chocolate, glabro, com muito poucos pélos. Fóvea torácica em forma de fenda. Queliceras e pernas da côr do cefalotorax, igualmente glabros e brilhantes. Esternito e ancas das pernas, no lado inferior, também mais ou menos glabros, com tonalidades para o amarelo marrom.

O $4^{\rm o}$ par de pernas é o mais longo (têmea), seguido pelo $1^{\rm o}$ e $3^{\rm o}$, sendo o $2^{\rm o}$ o mais curto.

Abdomen cor de cinza escuro; ventre cinza amarelado.

Apenas com 4 fiandeiras (fig. 8); as 2 interiores muito pequenas, bemafastadas na base. As superiores muito maiores, trisegmentadas."

Cambridge-Proc. Zool. Soc. London, pag. 250, 1889, refere de *Pseud-idiops* rostratus, que as fiandeiras superiores seriam apenas bi-articuladas-o que viria a constituir um fato curioso, insólito mesmo.

Ps. rostratus foi colhido do Estado da Bahia e parece bem diferente do exemplar de Belém. Cremos mesmo que se trate de uma espécie nova para a ciência, carecendo, entretanto, de confirmação com material mais abundante, machos é fêmeas.

· Gostariamos de propor desde ja o nome Pseudidiops siolii.

O exemplar se encontra na colecção aracnológica do Instituto Butantan, sob o $N.^{\circ}$ 3.123.

Avienlaria avienlaria (L.), 1758, 3 exemplares, machos.

colhidos por P. Ledoux na região da várzea do rio Guama, em junho de 1951 e depositados no Butantan, N.c 3.126; 3.127 e 3.128.

Acanthoscurria sp. 1 têmea bem curiosa e completamente diferente das espécies eonhecidas e descritas.

Colhida por H. Sioli, em 4-2-41, perto da localidade Tres Casas, às margens do Madeira.

Avicularia sp., 1 maeho.

Colhido por H. Sioli, de dentro de uma canoa, no rio Arua, em 31-5-52.

26 mm de comprimento total. Cefalotorax 11:11 mm.

Pernas anteriores e posteriores das mesmas dimensões. O 2º par mais eurto e o 3º par mais eurto que o 2º. Patela e tibia do 4º par por 1 mm, mas eurto que as do 1º par.

Toda a aranha eor de chocolate, eom densos pelos esbranquiçados. Sem aneis de pelos avermelhados ou róseos na parte distal dos tarsos. Esterno e ancas das pernas marrom eseuro, sem pelos braneos. Fimbria das ancas dos palpos e do suleo ungueal vermelha.

Cefalotorax tão largo quanto longo, bem mais eurto que a patela e tibia do 4º par de pernas e mais ainda do que as do 1º par.

Fôvea torácica redonda. Cómoro ocular quase 2 vezes mais largo que longo. Olhos M. A. bem maiores que os L. A., distantes entre si tres quartos de seu diâmetro e dos laterais um quarto. L. P. menores que os L. A. Olhos M. P. duas vêzes menores que os L. P., eontiguos a êstes. Uma linha imaginária reta, tangente às bordas anteriores dos M. A. seria tangente também às bordas anteriores dos L. A.

Reta tangente à borda anterior dos L. P. passaria no meio dos M. P.

Quelieeras com 10 dentes na borda interna do sulco ungueal, sendo os ápicais os mais robustos. Com uns 15 dentieulos minúsculos, ajuntados em área pequena, ao lado dos dentes 9 e 10, em direção à base do sulco (fig. 11).

Esterno bem mais longo que largo (5:4), com as sigilas do 3º par de pernas bem nitidas, grandes e de posição sub-marginal.

Lábio tão longo quanto largo, com o terço apical profusamente "euspidulado", obedecendo as eúspides á disposição mais ou menos regular de filas transversais.

Todos os tarsos com escópulas completas, atingindo sempre a base do artículo.

Metatarsos dos 2 primeiros pares de pernas escopulados até a base; do 3º par até a metade e do 4º par apenas no terço apical; sem pelos divisórios nas escópulas tarsais.

Apófise tibial do 1º par de pernas (fig. 9) bifida. A interna é menor, mais estreita e tem 1 espinho na base. A externa é robusta, e longa, eom um rastelo no ápieo, formado por numerosos espinhos eurtos e dirigidos para dentro.

O tarso dobra-se do lado externo desta última apótise.

Bulbo copulador (fig. 10) com êmbolo muito longo, sinuoso em seu percurso e, além disso, recurvo, apresentando uma ponta fina, meio retorcida.

Este exemplar parece representar o macho de Avicularia juruensis até agora não descrito, pois C. Mello Leitão, em 1923 se referiu apenas à fêmea.

- 6) MATERIAL ENVIADO DA UNIVERSIDADE DE PORTO ALEGRE, RIO GRANDE DO SUL, em 17 de Maio de 1951:
 - 4 exemplares de Sclenops spixii;
 - 1 exemplar, macho, de Ctenus ocellizenter;
 - 2 exemplares de Actinopus crassipes;
 - I exemplar, macho, de Phoneutria fera;
 - 1 exemplar de Latrodectus geometricus;
 - 10 exemplares de Polybetes maculatus;
 - 1 exemplar, femea, de Phoneutria fera.
- 7) MATERIAL ARACNOLÓGICO PROVENIENTE DA GUIANA FRANCESA:

Colecionadores: — Drs. A. Hoge e J. M. Ruiz, do Instituto Butantan. Data: — Julho de 1951.

Avicularia ancylochyra Mello Leitão, 1923 — 7 femeas;

Avicularia avicularia variegata Cambridge, 1896 — 10 fémeas adultas e 2 fémeas jovens.

Capturados em Bordat Montabo (Santa Clara).

- 8) MATERIAL ENVIADO PELO DR. OTTO SCHUBART, em 10 de junho de 1952;
- N.º 2360: Scolopocryptops micrsii 1 exemplar filhote, Capturado sob pedras, perto da barragem da Cachoeira de Emas (Pirassununga), em 30-12-38. Devolvido.
- N.º 2361: Otostigmus caudatus 1 exemplar filhote, capturado na mata de Pedra Branca, sob cascas de árvores, em 30-12-38. Devolvido.
- N.º 2347: Neceportia longitarsis longitarsis 1 filhote, capturado numa capoeira, perto da estrada para a Cachoeira de Emas, em 18-12-38. Devolvido.
- N.º 2354: Scolopocryptops miersii 1 filhete, capturado numa capoeira na divisa com a Fazenda Graciosa, em 22-12-38. Devolvido.

- N.º 2374: Newportia l. longitarsis 1 filhote ,capturado em capoeira perto de um canavial, nos arredores de Baguassú, em 10-1-39.
- N.º 2377: Cryptops galatheae 1 filhote, capturado na Faz. Graciosa, sob tijolos do quintal, em 12-1-39.
- N.º 2477: Cryptops galatheae 3 exemplares, capturados na mata, sob cascas de árvores, na Faz. de Fonatanaris, e, 3-4-40. 2 devolvidos.
- N.º 2497: Cryptops galatheae 1 filhote, capturado em capoeira, perto da estrada, em 24-5-40. Devolvido.
- N.º 2547: Cryptops galatheae 1 filhote, capturado na mata, sob casca de árvore, na Fazenda Pedra Branca, em 1940. Devolvido.
- N.º 2531: Otostígunus limbatus 1 exemplar, capturado sob paus pôdres, em mata de Baguassú, Pirassununga, em 5-2-41. Devolvido.
- N.º 2601: Otocryptops ferrugineus ferrugineus 2 filhotes, capturados sob cascas podres, na mata da Fazenda da Barra, em 5-2-41. Devolvidos.
- N.º 2602: Cryptops galatheae 1 filhote, capturado na mata da Faz. da Barra, em 5-2-41. Devolvido.
- N.º 2615: Cryptops galatheae 1 filhote, capturado perto de Vassumunga, sob entulho, em 7-3-41.
- N.º 2616: Cryptops galatheae 1 filhote, da mesma procedencia do anterior. Devolvido.
- N.º 2620: Cryptops galatheae, 1 filhote e 1 adulto, capturados em Vassununga, em 9-3-41. Devolvidos.
- N.º 2627: Cryptops galatheac 1 exemplar, capturado sob pedras de um quintal, na Cachoeira de Emas, em 19-4-41.
- N.º 2639: Cryptops galatheae e Otostigmus candatus, capturados na Fazenda Santa Maria, em Porto Ferreira, em mata nascente, em 21-4-42. Devolvidos.
- N.º 2666: Cryptops galatheae I filhote, capturado na mata da fazenda Retiro de Sete Lagóas (Mogi-Guassú), em 2-8-41. Devolvido.
- N.º 2662: GEOPHILOMORPHA 1 filhore, sob tijolos empilhados num pomar da Fazenda Velha de Sete Lagóas, em 31-7-41. Devolvido.
- N.º 2719: Cryptops galatheae 1 filhote, capturado na Fazenda São José, perto de Rio Claro, em 29-9-41. Devolvido.
- N.º 2726: Otostigmus limbatus 1 exemplar, capturado na mata da Cachoeira de Cima, em Mogi-Guassú, em 12-10-41. Devolvido.

cm 1 2 3 4 5 6 SciELO 11 12 13 14 15 16

- N.º2746: Cryptops glatheae 2 exemplares, capturados em capoeira perto da cidade de Santa Rita Passa Quatro, em 30-12-41.
- N.º 2751: Cryptops glatheae 1 exemplar, capturado sob montão de paus podres, numa plantação de algodão, na Fazenda Pedra Branca, Pirassununga, em 15-1-42.
- N.º 2791: Newportia v. longitarsis 1 exemplar capturado em 31-2-43 em Pirassununga.
- N.º 2825: Otostigmus limbatus I exemplar, capturado numa capceira perto da Lagóa dos Patos, Municipio de Pirassununga, em 2-3-44. Devolvido.
- N.º 2826: Cryptops schubarti, nova species.
 - Tipo: N.º 711 da Colecção quilopódica do Instituto Butantan.
 - Local-tipo: Sob folhas secas, na mata do Procópio, Município de Porto Ferreira.
 - Paratipos: N.º 2826 da Coleção de Dr. O. Schubart, Pirassununga, com a mesma procedência da do tipo.
 - N.º 2885 da Ilha do Macaco, Mun. Jaboticabal; (I. Butantan 712).
 - N.º 3012 Santa Rita de Passa Quatro; (I. Butantan 713).
 - N.º 714 (Inst. Butantan) Fazenda Santa Maria, Porto Ferreira — 2 exemplares;
 - N.º 715 (Inst. Butantan) Baguassú, Mun. Pirassununga.
- Caracterização: Placa cefálica (fig. 12) com 2 sulcos longitudinais, divergentes, bastante delicados, mas que se estendem até a base das antenas. Io tergito com fossa semi-circular (fig. 12), nitida e 2 sulcos paramedianos, paralelos, que atravessam a fossa e continuam na frente. 21º tergito repuxado atrás, no meio (fig. 13); com sulco longitudinal mediano, largo e profundo. Os outros tergitos com os 2 sulcos paramedianos costumeiros, mas sempre mais reforçados na segunda metade de cada placa. Os sulcos colaterais dos mesmos tergitos não alcançam a borda posterior.

Coxosternum forcipular sem sulco algum e sem depressão; com borda anterior reta.

Esternitos com sulcos atravessados em ângulo reto, formando a figura de uma cruz. 21º esternito sem sulco mediano algum, como também o 20º.

Tarsos 1 e 2 das pernas com articulação muito mal distinguível. 21º pre-fémur com abundantes espículas, mais frequentes nos lados medial e

ventral, rareando na face dorsal. Fémur idem. Os dois sem protuberância espiculada no canto distal, mas o fémur apenas com 1 espinho maior e mais obtuso (fig. 14).

Pre-fêmur e fémur, na face dorsal, com a área um tanto achatada, foriemente sulcada nas junções dos artículos. Fémur sem espícula ventral mediana terminal. 21.ª tíbia com 7-11 espículas ventro-mediais enfileiradas (fig. 14). 1º tarso com 3 espículas enfileiradas (fig. 14). Toda esta perna ornada de pêlos longos.

Diagnóstico diferencial: — As espécie morfològicamente mais afim é sem dúvida a Cryptops galatheae, cujas pernas finais, têm, mais ou menos, a mesma conformação morfológica, com o mesmo número de espinhos. O "Habitat" seria igualmente o mesmo.

Entretanto, o 1º tergito de galafheae Meinert, 1886, não apresenta sulcos paramedianos, longitudinais. Os tarsos de galafheae não são separáveis em 1º e 2º tarso, isto é, não aparece articulação no permeio. Além disso, apresenta a espécie de Meinert uma margem bi-arqueada na parte anterior do coxosternum forcipular.

É esta espécie dedicada ao prof. Otto Schubart.

- N.º 2829: Otostigmus sp. 1 exemplar, colhido na Fazenda Landgraf, em
 7-3-44. Em man estado de conservação, impossibilitando a
 determinação da espécie. Devolvido.
- N.º 2830: Otostigmus kretzi 2 exemplares, colhidos na Fazenda Nova America (Analândia), em pasto, sob pedras, em 7-4-44.
- Diagnóstico: Antenas com 18 artículos. Placa cetálica sem sulcos pequenos sulcos anteriores nos tergitos 2, 3, 4 e 5.6° e 7° já com sulcos mais extensos. Do 8° ao 20° sulcos paramedianos completos, mas sempre muito delicados. 21° sem sulco algumm. Somente este com carenas laterais.

Coxosternum forcipular com curto sulco anterior. Placas dentárias com 4+4 dentes isolados, sendo o externo menor que os outros.

Esternitos 3-17 com 2 sulcos anteriores muito curtos. Esternitos lisos, sem depressão alguma. Tarsos 1-16 com 2 esporões; 17-20 com um esporão; 21º sem esporão. 21º esternito truncado atras; sem depressão alguma.

- N.º 2884: Cryptops schubarti sp. n.
 - Colhidos es 3 exemplares nas matas marginais do rio Mogi, no Municipio de Araraquara, em 28-8-44. Devolvidos.
- N.º 3024: Otostigmus cavalcantii, 1 exemplar, colhido por Da. Jandira Schubart, sob madeira pódre, na Fazenda Floresta, Morro Grande (Município Rio Claro), em 15-9-45. Devolvido.

- N.º 3092: Scolopcudra v. viridicornis colhido em Emas, Pirassununga, em campo cerrado, por baixo de um cupimzeiro, em 29-7-46.

 Devolvido.
- N.º 3207: Otostigmus cavalcantii, colhido em Emas, em 13-3-48, num buraco de Tatú, abandonado. Devolvido.
- N.º 3213: Otocryptops ferrngineus ferrngineus 1 filhote e 1 adulto, colhidos em 22-10-48 em capoeira, perto da cachoeira de Espraiada, Municipio Ouro Fino. Devolvido.
- N.º 3328: Lithobius sp. Colhido numa capoeira, perto do córrego, na Mata Negra, Mun. Descalvado, em 20-1-51. Devolvido.
- N.º 3225: Otocryptops f. ferrugineus colhido sob pau pôdre, em pasto, perto de Capão Redondo, Pirassununga, em 26-11-48, em 26-11-48. Devolvido.
- N.º 1282: Otostigmus kretzi 3 exemplares, capturados sob pedras em Baguassú, Pirassununga, em 27-12-38. Devolvidos.
- N.º : Otostigmus cavalcantii colhido em Emas, em 21-6-40. Devolvido.
- N.º 1403 Cryptops schubarti, n. sp. colhido num bambusal, na Fazenda Santa Maria, Município Porto Ferreira, em 17-1-40.
- N.º 1501: Otocryptops f. ferrugineus colhido por Da. Jandira Gaspar, perto da Cachoeira de Emas, Pirassununga, em 19-6-42. Devolvido.
- N.º 1570: Scolopendra v. viridicornis capturado em Baguassú, em 19-6-42.

 Devolvido.
- N.º 1571: Cryptops schubarti n. sp. Capturado por Da. Jandira Gaspar, em Baguassú, Pirassununga, perto de uma casa, em 22-6-42.
- N.º 1586: Rhysida nuda capturado na Fazenda Pedra Branca, Pirassununga, numa roça, em 20-8-42. Devolvido.
- N.º 1574: Cryptops iheringi capturado de noite sobre a ponte da cachoeira de Emas, em 23-6-42. Devolvido.
- N.º 1701: Otostigmus carulcantii capturado em 29-12-43, numa garage de Pirassununga. Devolvido.
- N.º : Cryptops schubarti n. sp. capturado no Pesqueiro de João Jorge, numa capoeira, por Col. Newton dos Santos, em 16-3-44.
- N.º : Rhysida brasiliensis capturado perto de casas da Fazenda Campo Alegre, Pirassununga, por Da. Jandira Gaspar, em 6-3-45. Devolvido.
- N.º 1726: Otostigmus cavalcantii capturado por Orlando Sinotti, à beira da estrada, Pirassununga.

- N.º 1728: Cryptops iheringi capturado à porta da cosinha, por Da. Jandira Schubart, Pirassununga, em 15-6-45.
- N.º : Rhysida brasiliensis capturado por José Callegari, em Visconde do Rio Claro, Mun. Analândia, em Março de 1946... Devolvido.
- N.º 1770: Rhysida brasiliensis —, capturado em Pirassununga, num parque, perto de uma bomba d'água, em 12-6-46.
- N.º ...: Cryptops iheringi capturado na usina de Cachoeira de Emas,.
 em Maio de 1947.
- N.º 1780: Rhyda brasiliensis capturado em roça, por I. B. Lima, na Cachoeira de Emas, em 6-10-48. Devolvido.
- N.º ...: Otostigmus cavalcantii 2 exemplares, da cachoeira de Emas. Devolvidos.
- N.º 1818: Cryptops iheringi cachoeira de Emas, capturado por Isaura P. de Lima, dentro de casa, em 2:5-49. Devolvido.
- N.º 1844: Cryptops iheringi capturado por Callegari, no Horto Florestal de Rio Rio Claro, em Julho de 1949. Devolvido.
- N.º 1876: Cryptops iheringi, capturado na usina da Cachoeira de Emas, em 18-5-40. Devolvido.
- N.º 1877: Rhysida brasiliensis, encontrado perto de um galinheiro em Pirassununga, em 2-7-50.
- N.º 1906: Rhysida brasiliensis, no quintal de uma residência em Pirassununga, em 21-1-51. Devolvido.
- N.º 1948: Cryptops iheringi, capturado num quintal, Pirassumunga. Janeiro de 1952. Devolvido.
- N.º 1951: Rhysida brasiliensis, capturado dentro de uma casa em Pirassununga, em 10-3-52.
- N.º 1949: Rhysida brasiliensis, encontrado no parque de Pirassununga, em 27-1-52. Devolvido.
- N.º ...: Otostigmus tibialis, encontrado na usina Jacaré, Municipio Brotas, em 10-1-52. Devolvido.
- N.º ...: Rhysida brasiliensis encontrado em capoeira na Estação Experimental de Pirassununga, em 14-8-48. Devolvido.
- N.º ...: Scolopendra v. viridicornis, capturado pelo colegial Callegari, em-Visconde de Rio Claro, em Março de 1946. Devolvido.
- N.º 2729: GEOPHILOMORPHA um exemplar, coletado por Jandira: Gaspar, em Mogi-Guassú.

'9) MATERIAL DO MÉXICO, VERA CRUZ, ENVIADO PELO DR. XAVIER NIETTO, DO CENTRO DE HYGIENE E ESTACIÓN DE ADIESTRAMENTO EN ENFERMIDADES TROPICAIS:

Centruroides gracilis (Latr.), 1778.

328 exemplares, capturados em Colina, Mexico, em 1952. Vejovis mexicanus C. L. Koch, 1836 — 11 exemplares do mesmo local. ARGIOPIDAE — 200 exemplares de diversos gêneros e espécies. Eurypelma sp. — 1 exemplar, da mesma procedência.

10) MATERIAL, ENVIADO DA COLOMBIA, PELO PADRE HERMANO DA-NIEL, COLÉGIO SAN JOSÉ:

Chactas gestroi Kraepelin, 1812 — 3 exemplares.

Hermano Daniel enviou também um lote de DIPLOPODA e ARANEO-MORPHA. Infelizmente, porém, o material sofreu tanto na viagem que não mais pôde ser identificado.

11) MATERIAL ENVIADO DA COLOMBIA, PELO DR. A. RODRIGUES GO-MES, CORDOBA, CUNDINAMARCA:

Centruroides margaritatus (Gervais), 1841 — 1 exemplar.

12) MATERIAL PROVENIENTE DA REGIÃO AMAZONICA:

Colecionadores: — Srs. A. Hoge e assistentes do Instituto Butantan, em excursão científica: — 1952.

a) CHILOPODA:

Scolopendra v. viridicornis — 1 exemplar de Thomé — Assú; 1 " de Acara Mirim. Pará; 1 " de Macapá;

Scolopendra viridicornis nigra — 3 exemplares da Ilha de Sant'Ana, Maranhão.

Otostigmus pococki — 2 exemplares da Ilha Santana, Maranhão; 1 exemplar de Manacapurú.

Scolofendra morsitans — 1 macho da Boca do Teié, Solimões; 3 exemplares de Belém do Pará.

Otocryptops f. ferrugineus — 1 exemplar da Boca do Copeá.

Scolopocryptops micrsii puruensis — 2 exemplares de Belém do Pará; 1 exemplar de Igarapé, Pará; 1 É do IAN, Belém, Para.

Otostigmus amazonae — 4 exemplares do IAN, Belém do Pará.

b) SCUTIGEROMORPHA:

Brasilophora trimarmorata — Thomé Assú — 1 exemplar; Margens do Rio Tapajóz — 1 exemplar; Margem do Guamá, Belém do Pará.

c) DIPLOPODA:

Foz do Tefé: 230 exemplares (env. a O. Schubart); 6 Igarapé: - 1 Oiapoque: — (Amapá): São Luiz, Maranhão: - 5 Boca do Catuã: 6 5 Boca do Copeó: IAN-Rio Guamà: 10 IAN-Belém: 66 Thomé-Assú: 11 1.1 Rio Guamà: Boca do Japucá: 26

d) ORTHOGNATHA (aranhas caranguejeiras):

Azicularia o. azicularia:

Boca do Tefé, rio Solimões. Amazonas: 49 exemplares; Thomé Assú: 3 " Boca do Jacaré (Solimões): 4 " Belém do Pará: 3 " IAN, Belém (Prof. P. Ledoux): 5 "

Sericopelma sp.:

Boca do Tefé: 2 exemplares; Thomé-Assú: 1 exemplar; Rio Solimões: 2 exemplares; Igarapé, Belém: 1 exemplar.

TRECHONINAE - Trechona sp.:

Boca do Tefé, Solimões: 5 exemplares;
Igarapé: 1 exemplar;
Cachoeira (S. Manuel): 3 exemplares;
Thomé Assú: 3 exemplares;
Boca do Copeó: 1 exemplar;
Boca do Napurá: 1 exemplar;

As espécies dos gêneros *Trechona* e *Sericopelma*, como dos demais gêneros, ainda mal caracterizados sistemàticamente, só poderão ser determinadas com segurança com material mais abundante e de outras regiões.

e) LABIDOGNATHA: — (aranhas verdadeiras):

Belém do Pará: 2 Ctenus crulsi.

Rio Guamá, Pará: 1 Ctenus cuminaensis.

- I3) MATERIAL, ENVIADO AO BUTANTAN PELO DR. HELMUT SICK, FUNDAÇÃO BRASIL CENTRAL: 16-III-53.
- J. 306: Scolopendra viridicornis viridicornis, 1 exemplar retirado do estó mago de uma ave de rapina (A. 961).
 Jacaré, Alto Ningú, Mato Grosso.
- J. 750: Rhysida longipes longipes Santa Teresa, Rio de Janeiro, Distrito Federal. (Butantan N.º 743).

SciELC

11

12

13

14

15

16

- J. 751: Scolopendra subspinipes fulgurans, 2 exemplares; Santa Teresa, Rio de Janeiro, Distrito Federal.
- J. 718: Tityus paraguayensis, 2 exemplares: Aragarças, Rio Araguaia, Goiás.

5

2

3

cm 1

- J. 752: Bothriurus bonariensis, 2 exemplares; Aragarças, Rio Araguaia, Goiàs.
- Sem N.º: Otocryptops ferrugineus ferrugineus Itatinia; Estado do Rio de Janeiro.
- Sem N.º: Lycosa erythrognatha;

 Phoneutria fera;

 Scolopendra subspinipes fulguraus;

 Santa Teresa, Rio de Janeiro, Distrito Federal.
- Sem N.º: Pterino felma sp., 1 macho.

 Itatiaia, Estado do Rio de Janeiro.

 A determinação específica depende de uma revisão dêste e dos gêneros afins.
- J. 432: GEOPHILOMORPHA

3 exemplares em mau estado de conservação, tornando impossível a sistematização.

Ilha Grande, Rio de Janeiro.

Cryptops iheringi 1 exemplar.

Da mesma procedencia.

Sem N.º: — Otostigmus limbatus diminutus 1 exemplar. Aragarças, Goiás. Capturado em 15-IV-52.

Segundo a caracterização de C. Attems (Das Tierreich, Scolopendromorpha, 1930, pagina 156) distingue-se *Otostigmus limbatus* fàcilmente dos outros Otostigmineos:

por apresentar 4 artículos basais das antenas sem pélos;

por ter 2 sulcos longitudinais completos nos esternitos 2-20;

por apresentar 2 cavidades subredondas, rasas, entre êstes dois sulcos (2-20); por existir 1 esporão tarsal, muito pequeno, apenas no primeiro par de pernas. Em casos raros poderá haver um esporão tarsal pequeno ainda em alguns pares de pernas anteriores.

Em 1939 estabelecemos a subespécie O. limbatus diminutus, distinguivel de limbatus limbatus Mein., 1886:

por ter 2 esporões tarsais, pequenos, nos primeiros 2-3 pares de pernas; por ter apenas 2 e meio artículos basais das antenas sem pêlos; por serem os sulcos nos esternitos abreviados nas placas 18 e 19 e inteiramente ausentes na 20a., bem como as duas depressões entre êstes sulcos.

Quanto ao esporão pequeno nos tarsos das pernas anteriores (ausente ou presente), existe nesta subespécie a mesma variação de *l. limbatus*, embora quase sempre êste esteja ausente. (Conf. Mem. Inst. Butantan, 13, 271, 1939).

Em 1942 (Mem. Inst. Butantan, pag. 71 e 81) voltamos ao assunto, trazendo a prova de que a ausência de pêlos nos artículos basais das antenas está sujeita a variações, podendo ora estar sem pelos apenas 2 e meio artículos ou mesmo 3 (constituindo a ausência de pelos em 4 artículos a variação extrema).

Na mesma ocasião demonstramos que os 2 sulcos longitudinais dos esternitos também estão sujeitos á variação, no sentido de que eles podem estar ausentes já completamente no 20º esternito e presentes no 19º apenas sob a forma de 2 curtos sulcos anteriores.

À vista dos achados, já não há distinção entre ON. limbatus limbatus Meinert, 1886 e limbatus diminutus Bücherl, 1939, no tocante ao número de artículos antenais sem pêlos e da presença on ausência de sulcos nos esternitos 20 e, em parte, 19.

Subsistem, entretanto, caracteres outros, cujo conjunto continua a justificar a sub-espécie como distinta de limbatus diminutus limbatus limbatus Mein.

Estes caracteres são enumerados por nós, em 1946 (Mem. Inst. Butantan, 19.155), devendo ser descontado apenas o escrito sobre os artículos basais das antenas e dos sulcos dos esternitos,

Com a vinda do exemplar de Aragarças retomamos o assunto, á procura de um caracter morfológico mais impressionante para uma segura diferenciação das duas subespécies.

Sempre nos parecen que o caracter específico de limbatus, mais elucidativo e que mais caia na vista do especialista, para determinar com segurança esta especie das 3 ontras dezenas do mesmo gênero, repousava justamente na ausência do esporão tarsal em todas as pernas. Não há outra espécie com êste caracter, pois todas as outras apresentam ou 2 esporões ou I bastante robusto, existentes do primeiro ao 19º ou 20º par de pernas.

O exame de um número maior de exemplares, vindos em geral de todos os Estados sulinos do Brasil, vein nos convencer, entretanto, que existem representantes de *limbatns* com 2 esporões também no 1.º par de pernas e com 1 esporão em mais 2-3 pares anteriores. Trata-se, sim, sembre de um esporão tarsal extremamente pequeno, em contraste com a robustez de mesmo nas outras espécies.

Chegámos mesmo a examinar exemplares com esporão tarsal em 5 pares de pernas e isto nas duas subespécies limbatus limbatus e limbatus diminutus.

Mais tarde, num lote do Museu Parànaense, vimos representantes da zona oeste, limítrofe com Mato Grosso, em que havia um esporão dimínuto mesmo nas 10 peruas anteriores.

O exemplar de Aragarças, agora examinado, apresenta I esporão tarsal desde o 3º até ao 19º par de pernas. Sempre se trata de um espinho muito pequeno, necessitando de anmento de lupa para ser apreciado.

Como nos outros caracteres o exemplar de Aragarças é um representante da subespécie limbatus diminutus; cremos haver necessidade apenas de ampliar o diagnóstico desta subespécie, incluindo-se no mesmo êste novo fato: "Esporão tarsal pequeno até as pernas 19, podendo estar ausente também desde o 3º ou 4º par."

- J. 284: Rhysida brasilicusis rubra I exemplar; Chavantina, Rio das Mortes, Mato Grosso.
- Sen N.º Scolopedra v. viridicornis I filhote, de Aragarças.
- J. 57: Cryptops heathii Do Rio Pindaiba, Mato Grosso. Encontrado no ninho de Contermes sp.
- J. 724: Brasilophora margaritata De Garapú, Alto Xingú, Mato Grosso; capturado dentro de um rancho.
- J. 263: Cryptops heathii De Chavantina.
- J. 723: Polyhetes maculatus De Garapú, Alto Ningú.
- J. 33: Rhoda calcarata carvalhoi
 3 exemplares, retirados do estômago de Haplocercus spinosus,
 Chavantina.
- J. 193: Cryptops heathii Do rio Koluene, Alto Xingů, Mato Grosso.
- Sem N.º: Newportia diagramma aureana Aragarças, Mato Grosso.
- 14) MATERIAL DA ARGENTINA E O DO CHILE, ENVIADO PELO PROFESSOR DR. MAN BIRABEN:
- 1. GEOPHILOMORPHA:

Bariloche, Gob. Rio Negro; Biraben col. em NI-48; Felipe Sola, Prov. de Buenos Aires; Martinez col. em NII, 1951; Lago Meliquina, Gob. de Neuquén; Biraben col. em II-48; Palmar, Santa Barbara, Jujuy; Biraben col. em V-47; Alpa Corral, Cordoba; Biraben col. em 18-VI-50.

2. LITHOBIOMORPHA:

- a) Lithobius gen.: (platensis sp.?)
 Alta Graeia, Prov. de Cordoba; Biraben col. em VII-1951;
 Bajo Grande, Prov. de Cordoba; Biraben col. em XI-1949;
 Alpa Corral, Prov. de Cordoba; Biraben eol. em 18-VI-1950;
 Palmar, Santa Barbara, Juju; Biraben eol. em V-1947.
- b) Anopsius gen.: A. productus?
 Las Plumas, Chubut; Biraben col. em XI.1948;
 Cabo Buen Tiempo, Gallegos, Gob. de Santa Cruz; Biraben col. em III-48;
 Oran, Prov. de Salta; Biraben col. em 8-XII-51;
 San Pedro, Prov. de Salta; Biraben col. em 29-XI-51.
- c) Catanopsius gen.: C. chilensis?

 Valle del Aysen, Chile; Biraben col. em XI.48;

 Lago Huechulaufquén, Gob. de Neuquén; Biraben col. em II-49;

 Mina Aguilar, Tres Cruces, Jujuy; Biraben eol. em IV-1947;

 Perales, Prov. de Jujuy; Biraben eol. em 13-XII-50;

 Valle Grande, Jujuy; Biraben col. em 3-XII-1950;

 Lago Fontana, Prov. do Chubut; Biraben col. em 22-II-1948;

 Thea. Prov. de Cordoba; Biraben col. em XI-1950.
- Comentário: Não procedemos à determinação genérica siquer dos Geofilomorfos, porque os poucos exemplares eram procedentes de regiões diversas e, eram, em sua maioria, filhotes, impossibilitando-nos uma determinação segura.

À determinação específica dos *Litobiomorfos* segue um ponto de interrogação, o que quer dizer que não estamos absolutamente seguros da elassificação específica. Verhoeff, em suas últimas publicações, tem invalidado diversos gêneros sul-americanos de Broelemann e pôsto em sinonimia espécies de Sivestri, reclamando por uma nova redistribuição de grande número de gêneros e espécies sul-americanos. Os poucos exemplares da coleção do Instituto Butantan não nos capacitam a empreender esta revisão.

3. SCUTIGEROMORPHA:

Brasiloscutigera viridis:

Sierra Guanaco, Prov. de Chubut; Biraben eol. em XI-1948.

Scutigera parcespinosa:

Valcheta, Rio Negro, Argentina; Biraben col. em XI-1948.

4. SCOLOPENDROMORPHA:

a) Scolopendra:

Scolopendra viridicornis viridicornis:

Rio Hondo, Santiago del Estero; Biraben col. em XI.1950 Palmar, Santa Barbara, Jujuy; Biraben col. em V.1947; La Viña, Prov. de Catamarca; Biraben col. em 9-III-1950; Pocitos, Prov. de Salta; Biraben col. em 21-10-1951; El Cadillal, Prov. de Tucuman; Frosen col. em X-1947; Fraile Pintado, Jujuy; Biraben col. em 10-XII-50; Embarcación, Prov. de Salta; Biraben col. em V-1947; Hickman, Prov. de Salta; S. Pierotti col. em XI-1951; Laguna Yema; Gob. de Formosa; Biraben col. em V-1947.

b) Cormocephaluss

Cormocephalus (C) impressus birabeni subsp. n.

Colorido olivaceo, uniforme em todo o tronco; esternitos e pernas amarelos; 53 mm de comprimento; placa cefálica mais longa que larga; com 2 sulcos longitudinais divergentes e que percorrem toda a placa; antenas com 17 articulos, dos quais os 8 basais sem pelos (fig. 15); primeiro e segundo artículos mais largos que longos; terceiro tão largo quão longo, do 4º em diante mais longos que largos. Placas basais presentes (fig. 15). Coxosternum forcipular com 2 sulcos longitudinais, convergentes na frente, a estender-se apenas até os sulcos transversais, que representam uma série de linhas irregulares. (fig. 16); placas dentárias um tanto mais longas que largas, munidas de 3 dentes isolados (iig. 16). 1º ao 20º tergito com 2 sulcos completos; no 1º os sulcos apresentam uma ramificação externa (fig. 15); sem elevação quilhar entre os sulcos; 21º tergito com sulco impar; carenas laterais desde o 12º tergito; esternitos 2-20 com sulcos completos; área entre os sulcos lisa, sem depressão; coxopleuras com apendice curto, cônico (fig. 17), com I espinho na ponta; sem espinhos laterais; prefemur das últimas pernas com apófise no canto apical interno terminada em 2 espinhos; na área interna 3 fileiras de 2 espinhos cada fila e mais 1 em direção à base da apófise (fig. 18).

Diagnóstico diferencial: — A nova subespécie distingue-se de C. impressus impressus Por., 1876 pelos 2 sulcos da placa cefálica, que não atingem a margem anterior da fronte em i. impressus; pelos 8 artículos basais das antenas desprovidos de pêlos, que são 6 apenas em i. impressus; pelos sulcos transversais do coxosternum forcipular. Em i. impressus há apenas 1 sulco horizontal e os 2 longitudinais atravessam êste e se estendem até a base das placas dentárias; em impressus birabeni há no 1º tergito uma ramificação lateral dos 2 sulcos paramedianos, ausente em i. impressus; as coxo-

pleuras de i. birabeni terminam com uma apófise, ausente em i. impressus; a apófise do último prefêmur termina com 2 espinhos na subespécie nova.

San Pedro, Prov. de Salta, Argentina.

Biraben col. em IV-1947.

Subespécie dedicada ao prof. Max Biraben, incansável colecionador de invertebrados.

Cormocephalus (Hemiscolopendra) lacrigatus

Santiago, Chile: Kuschel col. em 1947;

Las Palmas, Argentina; Biraben col. 1948. (= C. (II.) platei).

Cormocephalus (Hemiscolopendra) chilensis

Cabana, Cordoba; Piraben col. em 1949-50;

Caranchos, La Pampa; Biraben col. em XI-1948;

Jesus Maria, Cordoba; Biraben col. em X1-49;

Alta Gracia, Cordoba; Biraben col. em 7-1952;

Copacabana, Cordoba; Biraben col. em III-1949;

Pringles, Rio Negro, Argentina; Biraben col. em XI-1948:

Capilla del Monte, Cordoba; Biraben col. em 6-111-50;

Alpa Corral, Cordoba; Biraben col. 18-VI-1950;

Tulumba, Cordoba; Biraben col. em 11-1-1949;

Atos Pampa, Cordoba: Biraben col. 27-XI-50:

Cerro Colorado, Cordoba; Biraben col. em 1-XI-1949.

REAGRUPAMENTO DAS ESPÉCIES DO SUBGÊNERO IIEMISCOLOPENDRA E REDESCRIÇÃO DO MESMO:

No decurso dêste trabalho de determinação das espécies do gênero Cormocephalus, subgênero Hemiscolopendra, temos deparado com alguns "senões" no magistral e esmerado trabalho de Attems (Das Tiereich — MYRIAPODA — 2. SCOLOPENDROMORPHA, páginas 61 e 110-114, publicado por Walter de Gruyter e Co., Berlin e Leipzig, 1930). O copioso material, enviado pelo prof. Biraben nos coloca à vontade para esmiuçar êstes "senões".

a) Attems, página 61: - Chave dos subgêneros de Cormocephalus:

O citado pesquisador separa os dois subgêneros Cormocephalus e Hemiscotopendra da seguinte maneira:

1.º tergito sobrepassando a borda posterior da placa cefálica = Cormocephalus;

Placa cefálica sobrepassando um tanto o 1.º tergito ou união em justaposição dos dois segmentos = Ilemoscolopendra.

Este caracter morfológico não é apreciável, pois existem exemplares de Hemiscolofendra, em que o 1º tergito sobrepassa igualmente a borda da placa cefálica.

É muito mais prático separar os 2 subgêneros da seguinte maneira:

"Apéndice das coxoplenras pequeno, cónico ou quase inteiramente ansente: — Cormocephalus;

Apéndice das coxopleuras, longo, cilindrico, com 1 a 5 espinhos na ponta apical e 1-5 espinhos dorsais e ventrais: — Hemiscolopendra.

b) Artems, páginas 110-114: — Descrição das espécies de Hemiscolopendra, com chave para separá-las:

Na chave insiste Attems novamente na conformação da placa celálica em relação ao 1.º tergito, si há justaposição dos 2 segmentos, si a placa celálica se sobrepõe ao 1º tergito ou se está encaixada numa dobra do 1º tergito, de maneira que sua margem posterior fique invisível. O 2º ponto de referência è constituido pela extensão do campo poroso da região pleural do 21º segmento. Ora os poros ocupariam apenas uma faixa relativamente estreita, sem atingirem em todo o sen percurso a reentrância sulcal (platei), ora ultrapassariam, pelo menos na frente, esta reentrância, mas atrás deixariam livre uma área triangular (michaelseni). O apêndice coxopleural teria apenas 3-4 espinhos na ponta (michaelseni) ou mesmo 5 a 7 (laevigotus e chileusis).

Este modo de exposição (não deixa è de ser) muito impreciso. Mesmo, assim, poderia aprovitar-se a chave, estabelecida por Attems, si os referidos caracteres fossem realmente invariáveis. Mas é justamente isto que não se verifica.

O professor Biraben tem nos enviado lotes de Hemiscolopendro correspondentes às espècies — H. chilensis; H. lacvigatus; H. platei e H. michaetsem.

Apòs confronto morfológico chegámos à conclusão de que a espècie *H. chilensis* (Gervaís) 1847 é realmente bem caracterizável; *H. plotei* (Attems) 1903 é idéntica com *H. michaelseni* (Attems) 1903, devendo ser considerada sinónima a esta, com prioridade de página.

II. michaelseni, por seu turno, distingue-se de lacrigatus Porat 1876 por apresentar às vezes 7 espinhos na ponta das coxopleuras, embora a regra seja a presença de 5 espinhos no mesmo local. Ora platei também foi descrita por Attems com 5 espinhos terminais e o professor Biraben tem nos enviado um lote de lacrigatus de Santiago com 4-5 espinhos apicais neste apêndice.

Em face disto, não se pode deixar de colocar em sinonimia a espécie michaelseni (Attems) 1903 com H. lacrigatus Porat 1876.

Uma nova chave, que permite fácil orientação do interessado, seria a seguinte:

Preièmures do 21.º par de pernas pelo menos tres e meia vezes mais longos que largos; último tergito sem sulco mediano — H. chilensis (Gerv)

Presemures do 21º par de pernas uma e meia até duas e meia vezes mais longos que largos; último tergito com 1 sulco mediano — 2

Primeiro tergito com fossa horizontal em arco e mais 2 ramificações longitudinais, divergentes; borda posterior do último esternito levemente bilobada — H. punctiventris (Newport) 1844.

Primeiro tergito liso, sem fossa ou sulco; borda posterior do último esternito inteira, arredondada — H. laerigatus Porat 1876 (juntamente com as sinonimias: michaelseni e platei (Attems) 1903.

Todos os outros earacteres morfológicos variam e não são aproveitáveis para a determinação espécifica. Um grande número dêstes earacteres, como p. ex., "placa eefálica sobrepondo-se à borda anterior do 1º tergito"; "número de espinhos no apêndice coxopleural e nos prefêmures do último par de pernas" — varia mesmo dentro de um lote colhido no mesmo local e às vezes, num individuo (num e noutro lado).

Outros caracteres, dados como específicos por Attems, são apenas subgenérieos, isto é, comuns a todas as espécies. Podemos enumerar os seguintes: — Esternitos 2-20 com 2 suleos longitudinais; tergitos 4-20 com 2 suleos dorsais; número de artículos das antenas geralmente 17, podendo ocorrer a variação de menos 1 ou 4 mais; o número de artículos basais das antenas, que não têm pêlos é geralmente 5. No 6º já se pode encontrar uma orla de pêlos na área apical. Mas há também exemplares da mesma ninhada, em que apenas 4 artículos estão sem pêlos; em outros há 7 artículos desprovidos de pêlos. As "'carenas" laterais dos tergitos também não servem como caracter, pois, embora na maioria dos indivíduos existam carenas apenas no 21º tergito, pode haver também indivíduos da mesma espécie com os 3 últimos tergitos carenados lateralmente ou mesmo, o que é raro, os 5 últimos.

O apêndice coxopleural e o prefêmur das últimas pernas apresentam espinhos não sòmente na ponta do apêndice, mas também no percurso dorsal, lateral, do mesmo. O número dêstes espinhos varia bastante de indivíduo para individuo.

Tivemos ocasião de examinar maehos e fêmeas de um mesmo lote e vimos que a variação de espinhos no apêndice coxopleural e nos pretêmures das últimas pernas diz respeito também ao sexo. Geralmente os maehos têm maior número de espinhos que as fêmeas. É nos machos também que o 1º tergito se sobrepõe levemente à borda posterior da placa cefálica, enquanto que nas fêmeas pode haver justaposição ou a placa cefálica sobrepõe o 1º tergito.

Mem. Inst. Butantan 25(1):109-151, 1953

Tudo isto nos obriga a deixar valer apenas tres espécies:

Cormocephalus (Hemiscolopendra) punctiventris (Newp.) 1844.

Habitat: América do Norte até o México

C. (H.) chilensis (Gervais) 1847.

Habitat: - Chile, Argentina ocidental (Em torno de Cordoba).

C. (H.) laevigatus Porat 1876 (com as sinonimias: C. (H.) michaelseni e platei (Attems) 1903.

Habitat: — Argentina, Chile, Brasil, Colombia, Guianas e Uruguai.

c) Otostigmus:

Otostigmus inermis:

Plamar, Santa Barbara, Prov. de Jujuy; Biraben col. em V-1947. Campo Gallo, Santiago del Estero; Farhat col. cm XI-I950.

Otostigmus limbatus limbatus:

Brazo Largo (Delta), Entre Rios: Biraben col. em VIII de 1949.

Otostigmus limbatus diminutus:

Palmar, Santa Barbara, Jujuy; Biraben col. em V-1947.

Otostigmus tibialis:

Yala, Jujuy: A. Prosen col. em XII - 1948;

Salta (cidade); Biraben col. cm IV-I947;

San Xavier, Gob. de Missiones; Biraben col. cm XII — 1948;

Las Capillas, Jujuy; Biraben col. em 16-XI-1950.

d) Rhysida:

Rhysida nuda nuda:

Manantiales, Corrientes; Biraben col. em XII-I949.

e) Cryptops:

Cryptops (Trigonocryptops) ilicrinfi:

Las Capillas, Jujuy; Biraben col. em 16-PI-1950.

Cryptops (Cr.) galatheae:

Cabana, Prov. de Cordoba; Biraben col. em 1949-50.

SciELO 15 2 3 11 13 14 16 cm

Cryptops argentinus sp. n. (Figs. 19-20).

Manantiales, Corrientes; Biraben col. em XII-1949; Puerto Constanza, Entre Rios; Biraben coll. em XI-1948.

Tipo e paratipos: — Coleção do Inst. Butantan e do Prof. Biraben, La Plata.

Caracterização: — Todo o corpo amarelado; comprimento 32 mm; placa cefálica com 2 sulcos longitudinais completos, divergentes; lo tergito sobrepassando a borda posterior da placa cefálica; Coxosternum forcipular com 2 placas dentárias arqueadas, muito estreitas e mal destacadas; lo tergito com fossa arqueada, horizontal e com 2 sulcos longitudinais completos, isto é, atravessam a fossa e continuam em frente até a borda anterior; tergitos 3-20 com 2 sulcos longitudinais; 4-18 ainda com 2 sulcos laterais, arqueados, anteriores; carenas laterais somente no 21º tergito; antenas com 17 artículos; os primeiros 4 com cerdas mais longas; esternitos 2-19 com sulco mediano longitudinal e 1 transversal; entrecortando-se os dois e formando uma cruz; 20º e 21º esternito lisos, sem sulco; borda posterior do último esternito truncada; área porosa das pleuras do último segmento não atingindo a margem do tergito: 1º e 2º tarsos das pernas indistintos; prefêmures das pernas com orlas de cerdas em toda a volta, no lado ventral maiores e seriados longitudinalmente; fêmures, principalmente das pernas 19 e 20 com 7-8 cerdas mais longas, seriadas na face ventral; prefémur e fémur do último par de pernas com cerdas enfileiradas ventralmente; fémur com 1 espinho subapical; tibia com 6-7 espinhos seríados que começam no fim do primeiro terço: 1º tarso com 3 espinhos seriados; 2º tarso sem espinho algum; garra recurva, com lâmina em forma de gume; poros grandes; 2 espinhos na margem posterior (fig. 21).

Diagnostico diferencial: — Comparação com C. triserratus (Chile), patagonicus, crassipes e galatheae (Argentina):

- C. triserratus: Placa cefălica sem sulcos longitudinais; 1º tergito sem tossa nem sulcos; coxopleuras sem espinhos; último femur com 3, tibia com 12-16, 1º tarso com 3-5 denticulos seriados.
- C. patagonicus Mein. 1886: mal caracterizado, constando apenas que os sulcos laterais dos tergitos começam já no 2º tergito; borda posterior do último esternito muito protraída.
- C. crassipes Silvestri 1895: placa cefălica sem sulcos longitudinais; fossa circular do 1º tergito curvada para tras na linha mediana; os dois sulcos longitudinais não continuados em frente à fossa; uma quilia mediana entre os sulcos dos tergitos; esternitos com sulco transversal leve; coxopleuras

se mespinhos atras; 1º tarso das últimas pernas com 2, tibia com 6, femur sem espinhos seriados.

C. galatheac Meinert 1886: — Placa cefălica muitas vezes sem sulcos longitudinais; quando presentes, são muito leves; 1º tergito sempre sem sulcos longitudinais; a iossa arqueada muito leve, quando presente; muitas vezes ausente; coxopleuras sem espinhos; tibia do último par de pernas, além dos denticulos seriados em número de 7-8, ainda 2 espinhos robustos na área apical.

RESUMO

No presente trabalho se o material dos ARANEOMORPHA, MYGALO-MORPHA, SCORPIONES, SCUTIGEROMORPHA, e SCOLOPENDRO-MORPHA, enviado ao Instituto Butantan, à Secção de Animais Venenosos, dos seguintes países e pelos seguintes senhores:

- 1. Perú: professor Walfang Weyrauch:
- 2. Algeria e Marrocos; Dr. Max Vachon, Museu de Historia Natural, Paris;
- 3. Fundação Brasil Central: Dr. Helmut Sick, Rio de Janeiro:
- 4. Pará e Amazonas (Brasil); Drs. professores Paul Ledoux e Harald Sioli, do Instituto Agronómico do Norte. Belém;
- 5. Rio Grande do Sul (Brasil); Universidade de Porto Alegre;
- 6. Guiana Francesa: Dr. A. Hoge e professor J. M. Ruiz, do Instituto Butantan;
- Interior do Estado de São Paulo; Dr. Otto Schubart, Estação de Caça e Pesca; Pirassumunga;
- 8. México (Vera Cruz): Dr. Navier Nietto, Centro de Hygiene e Estación de Adiestramento en Enfermidades Tropicales;
- 9. Colômbia; proi. Hermano Daniel:
- 10. Chile; prot. Max Biraben;
- H. Argentina; professor Max Biraben.

Foram descritas as seguintes novidades sistemáticas:

- 1. Rhysida celeris andina (Perú):
- 2. Cormocephalus impressus peruanus (Perii);
- 3. Pscudidiops siolii (Para, Brasil);
- 4. Cryptops schubarti (São Paulo, Brasil);
- 5. Cormocephalus impressus birabeni (Salta, Argentina);
- 6. Cryptops argentinus (Corrientes, Argentina).

As espécies do subgênero Hemiscolopendra, género Cormocephalus, são reagrupadas em novas chaves, pondo-se em sinonimia C. platei e C. michaelseni com C. lacrigatus.

SUMMARY

Several collections of ARANEOMORPHA, MYGALOMORPHA, SCUTIGEROMORPHA, SCORPIONES and SCOLOPENDROMORPHA, are classified, which were received by the Instituto Butantan from Peru (prof. W. Weyrauch), Algeria and Marocco (Dr. Max Vachon, Paris), from Central Brazil (Dr. Helmut Sick), Pará and Amazonas (Dr. Paul Ledoux and Harald Sioli), from Rio Grande do Sul (University of Porto Alegre), from Guyana (Drs. A. Hoge e J. Rui), Mexico (Dr. Xavier Nietto), Columbia (Prof. Hermano Daniel), Chile (Prof. Max Biraben), Argentine (prof. Max Biraben) and from different localities of the State São Paulo (dr. Otto Schubart).

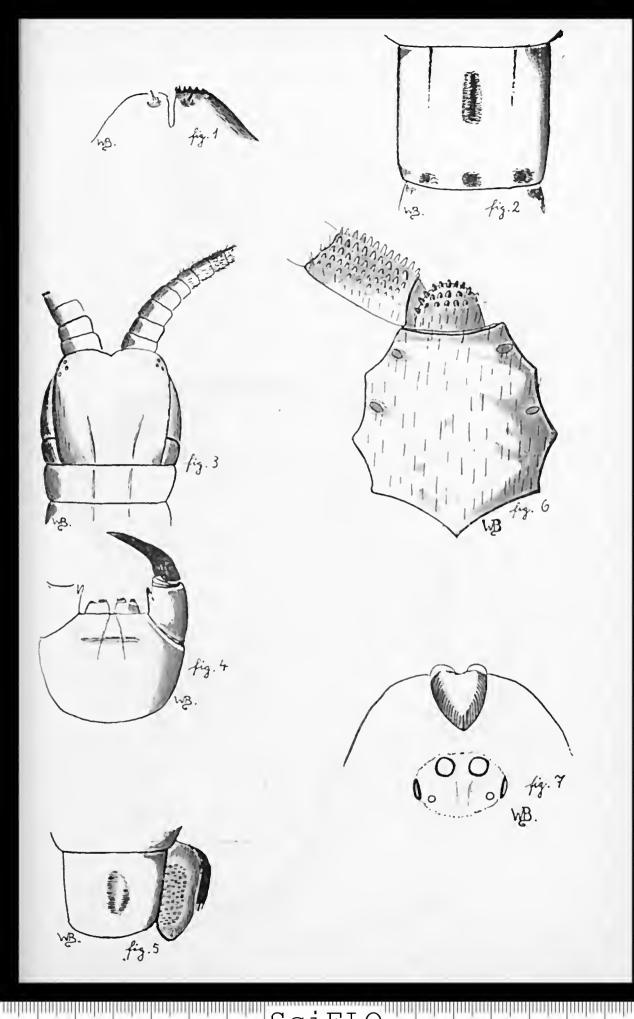
The following species and sub-species are described as new:

1. Rhysida celeris andina; 2. Cormocephalus impressus peruanus; 3. Pseudidiops siolii; 4. Cryptops schubarti; 5. Cormocephalus impressus birabeni; 6. Cryptops argentinus.

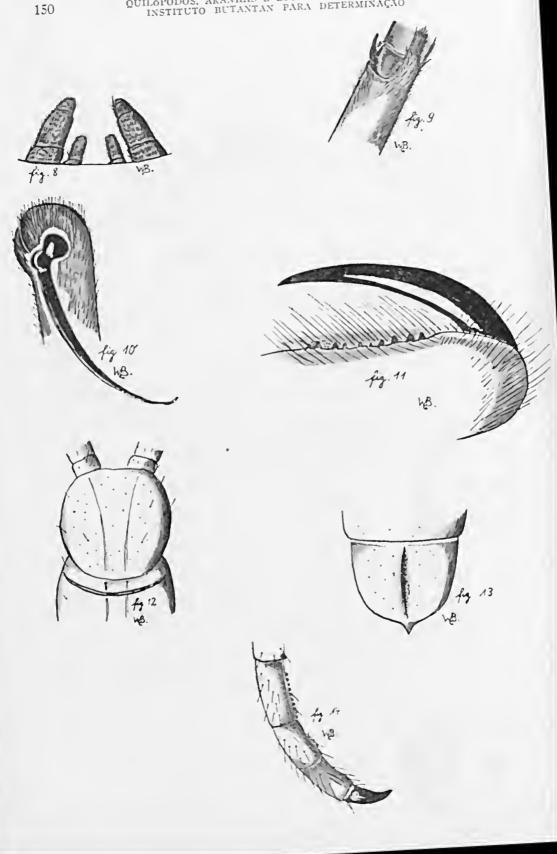
ZUSAMMENFASSUNG

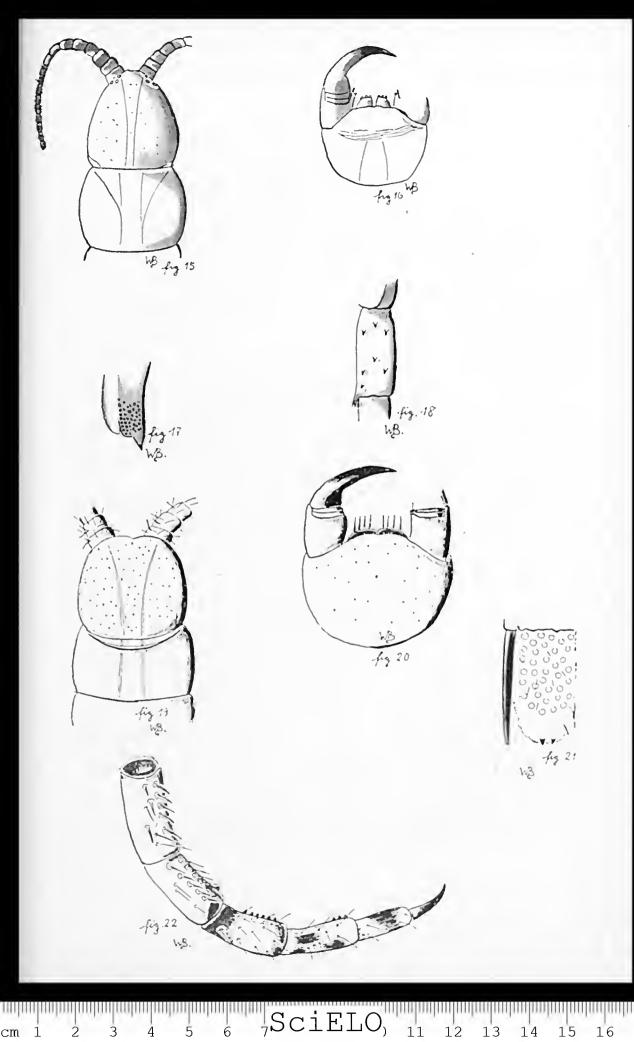
Die Sammlungen von Vogelspinnen, echten Spinnen, Chilopoden, Spinnenasseln und Skorpionen, die aus Peru, Kolumbien, Chile, Argentinien, Französisch-Guyana, Mexiko, Algerien und Marokko und von verschiedenen Gegenden Nord —, Süd-und Zentralbrasiliens sowie des Staates von São Paulo an unser Laboratorium im Institute Butantan gesandt wurden, sind bestimmt und folgende Tiere als neu beschrieben worden:

1. Rhysida celeris andina; 2. Cormocephalus impressus peruanus; 3. Pseudidiops siolii; 4. Cryptops schubarti; 5. Cormocephalus impressus birabeni; 6. Cryptops argentinus.



 $_{ ext{cm}}$ $_{ ext{1}}$ $_{ ext{2}}$ $_{ ext{3}}$ $_{ ext{4}}$ $_{ ext{5}}$ $_{ ext{6}}$ $_{ ext{7}} ext{SciELO},$ $_{ ext{11}}$ $_{ ext{12}}$ $_{ ext{13}}$ $_{ ext{14}}$ $_{ ext{15}}$ $_{ ext{16}}$





cm 1 2|||||||| 12



NOVO PROCESSO DE OBTENÇÃO DE VENENO SECO, PURO, DE PHONEUTRIA NIGRIVENTER (KEYSERLING, 1891) E TITULAÇÃO DA LD50 EM CAMUNDONGOS (*)

WOLFGANG BUCHERL

Laboratório de Zoología Médica, Instituto Butantan, São Paulo, Brasil).

INTRODUÇÃO

As aranhas peçonhentas do gênero *Phoneutria*, familia *CTENIDAE*, especies *Phoneutria nigriventer* e *Ph. fera* (+) constituem viva preocupação dos médicos sanitaristas. Esta é a razão principal de se ter o próprio fundador do Instituto Butantan, dr. Vital Brazil, a ajuda de J. Vellard, incumbido da produção de um eficiente *sôro antictenídico* (1).

Nos anos de 1925 e 1926, êstes dois pesquisadores (2) estudaram os efeitos das pieadas diretas, dos extratos glandulares e do veneno puro, obtido por um processo assás engenhoso; e, já no ano de 1926, imunizavam carneiros com extratos das glándulas de veneno e com soluções de veneno puro.

Desde aquele tempo até os nossos dias continúa o Instituto Butantan a produzir o soro anti-ctenídico, por imunização de cavalos com o veneno de *Phoneutria nigriventer*. O processo de obtenção do antigeno não tem variado essencialmente desde Vital Brazil. São empregados até hoje soluções aquoso-glicerinadas (em tôrno de 40% obtidas pela extração das glândulas totais da aranha cloroformizada, maceradas e trituradas com areia esterilizada e tituladas em cobaios.

Este processo tem naturalmente suas imperfeições. Células glandulares, tecido glandular epitelial, feixes musculares, etc. se juntam à peçonha, são triturados e parcialmente dissolvidos na solução. Embora provàvelmente não diminuisse a atividade do veneno, devem constituir antígenos estranhos. Os anticorpos lògicamente devem resultar não sòmente da parte da peçonha própriamente dita, mas tambêm destas proteinas estranhas.

Entregue para publicação, 15.X.53.

^(*) Phoneutria nigriventer e Ph. fera são justamente as espécies designadas por V. Brazil e J. Vellard como Ctenus nigriventer e Ctenus ferus. A espécie Phoneutria nigriventer parece ser idêntica a Ph. fera, devendo prevalecer o nome da última.

As titulagens do sóro, se bem que satisfatórias na prática e de acórdo com a posição de vanguarda do Instituto Butantan, não podiam satisfazer plenamente os próprios técnicos, mesmo porque ainda não foi possível sequer estabelecer-se a LD 50 da peçonha sêca, pura.

Lutava o Instituto Butantan ainda como outra dificuldade, às vezes premente: a da falta de aranhas para obtenção da matéria prima.

Embora existisse a *Phoneutria nigriventer* pràticamente em todo o sul do Brasil, a começar pelo Estado do Rio de Janeiro até o Rio Grande do Sul, o interior de São Paulo, Goiás e Mato Grosso e embora sua frequência fôsse maior ao longo do litoral sul, nunca chega ela contudo a correr em abundância (exceto em algumas ilhas praianas, como a das Alcatrazes).

Nestas condições, costumava o Instituto Butantan receber nêstes últimos apenas entre 500 a 800 aranhas por ano, em média, não sendo esta quantidade suficiente para provêr com sóro todos os que dêste necessitavam (inclusive a Argentina — Dr. A. Barrio; Uruguai — Dr. McKinnon; Basiléia, Suiça — Prof. Geigh; Hamburgo, etc.).

Para contribuir, de alguma maneira, para a solução destas dificuldades, temos tentado manter estas aranhas vivas, extrair delas periódicamente o veneno e doseá-lo para estabelecimento da LD 50 em camundongos.

CONSERVAÇÃO DE PHONEUTRIA NIGRIVENTER EM LABORATÓRIO:

A conservação de *Phoneutria nigriventer* em cativeiro é relativamente fácil. Para poupar espaço, facilitar o trabalho é permitir supervisão e contrôle diários, foram construidas *gaiolas em série*, sempre 20 numa fileira, sobrepondo-se as fileiras à maneira de degraus de escada de 5. Assim, 100 gaiolas ocupam apenas uma área de 0,60 por 2 metros, encontrando a aranha espaço suficiente para seus afazeres diários.

Cada gaiolinha é individual, não se podendo colocar 2 inquilinas numa só, sob pena de luta de morte. Em cada recipiente há um vidro fronteiriço (para o contrôle), encaixado em sarrafos de maneira de modo a permitir seu levantamento ou abaixamento. O fundo é de tela fina e no tôpo existe um furo, em que se pode encaixar um tubo de vidro ou borracha, para introdução do alimento e da água, caso não se queira fazer isto através do vidro frontal.

No interior de cada gaiola há apenas uma vasilha com água potável.

A Phoueutria uigriventer é uma aranha robusta e corajosa. Quando adulta, atinge em média 3-4 cm, de corpo (cefalotórax e abdome) com 6-8 cm, de comprimento das pernas, podendo medir entre 11-14 cm, de uma ponta da perna à outra.

Seu colorido geral é pardo-cinza, com uma fileira longitudinal de manchas triangulares, enfileiradas, mais claras, das quais podem irradiar outras manchas, do mesmo colorido, no abdome. Em tôrno das quelíceras há longos pêlos vermelhos. O ventre é preto nas fêmeas (*Ph. nigriventer*) adultas, vermelho nos machos adultos e vermelho em ambos os sexos, antes de atingirem a maturidade sexual.

O comportamento desta aranha em cativeiro é idêntico ao que ela adota na própria natureza, isto é, irascivel e agressivo, não recuando perante um perigo, mas colocando-se em posição de guarda. Costuma dobrar as pernas traseiras, de maneira que possam executar o papel de uma mola e permitir um salto rápido e alto (entre 30 a 40 cm.), e levantar as patas anteriores, com as garras ponteagudas erectas, para garantir a apreensão da possível vítima. Suas quelíceras recurvas distendem-se e na ponta de cada aguilhão aflora uma gotícula do veneno límpido.

A aranha enxerga muito bem e costuma acompanhar os movimentos do inímigo ou da vitima com um balanceio do corpo sobre as "molas" traseiras.

Esta atítude de guarda é típica para esta aranha. Nunca é dispensada, mesmo se, após longa permanência em cativeiro, a inquilina já se encontra mais calma.

Mesmo as nascidas em cativeiro, adotam, após 8-11 mêses de idade, a posição de ataque.

A água potável deve ser renovada com frequência. O alimento, que pode consistir em qualquer inseto vivo, camundongo recem-nascido ou mesmo num pequeno pedaço de carne fresca, deve ser dado na época quente cada 2 semanas e nos mêses de inverno cada mês ou mesmo cada 2 meses.

A alimentação é apenas interrompida, na época das mudas de pele.

A Phoneutria nigriventer atinge fàcilmente 4-5 anos, mesmo quando fór submetida a extrações de peçonha em períodos certos.

Os trabalhos de limpeza, da renovação da água, da alimentação e da extração de veneno devem ser executados com o máximo cuidado, não estando mesmo isentos de perigos. A aranha acompanha perfeitamente os movimentos das mãos humanas e, quando se lhe oferece qualquer oportunidade, ela procede ao ataque e à fuga rápida.

A mortalidade entre os exemplares adultos, sadios, é muito baixa, girando em tôrno de 1-3% por mês apenas. Entretanto, eremos poder afirmar, á luz de nossas experiências, que, ao tim do 5º ano de vida, sobrevêm os processos naturais de "envelhecimento", seguidos no 6º ano da morte natural.

Para que se obtenham resultados positivos na obtenção de veneno puro, é preciso tomar isto em consideração, isto é, escolher apenas aranhas do 2.º e 3.º anos de vida, que possam ser mantidas como produtoras periódicas de peçonha durante 2-3 anos.

Mesmo no laboratório elas são muito prolificas, construindo suas ootecas (às vezes 2 ou 3 em seguida), das quais eclodem centenas de filhotes.

As fémeas são mais agressivas do que os machos e também mais robustas.

Encontram-se atualmente cerca de duzentos exemplares de *Phoneutria ni*griventer em cativeiro, ao lado de varias centenas de filhotes, alguns já com 1 ano de idade, outros com 8 meses, outros com 4 semanas e outros recémnascidos.

Além da produção de veneno seco, puro, oferecem elas interessante campo para pesquisas biológicas das mais variadas.

Obtenção de veneno puro, sêco:

A obtenção de veneno puro constituira um ideal almejado pelo próprio Vital Brazil. Sempre se esbarrava na tremenda agressividade e incrivel velocidade desta aranha, aliadas à temível e perigosa atividade da peçonha. Nunca ninguém conseguira obter veneno sêco, puro em quantidades ponderáveis.

Vital Brazil e J. Vellard imunizaram já em 1926 os primeiros carneiros com veneno puro, utilizando-se do seguinte processo na sua obtenção:

Matavam as aranhas com clorofórmio; extraíam as glândulas veneniferas; lavavam estas râpidamente em água distilada: secavam sóbre papel de filtro e colocavam na estufa para secagem completa. Quando bem sêcas, eram pesadas. Depois embebiam novamente em soluto fisiológico. Suspendiam, então, uma por uma e com um bastonete se espremia levemente seu conteúdo, que era dissolvido em soluto fisiológico. As glândulas vazias eram novamente colocadas na estufa após secagem, submetidas a nova pesada.

A diferença de pêso entre as duas pesadas fornecia a quantidade de veneno puro, em solução no soluto fisiológico. Os pesquisadores operavam com um volume certo de soluto fisiológico. Podiam, pois, calcular em mg o veneno, contido em determinado volume de soluto, embora nunca tivessem trabalhando de fato com veneno puro, sêco.

É preciso acrescentar que a expressão glândular de *Phoneutria nigriventer* e espécies afins, com bastão de vidro, importa no esmagamento da estrutura celar destas *glândulas merócrinas*, devendo passar para os extratos muitos elementos celulares e glândulares. Que isto se tenha dado realmente com Vital Brazil e J. Vellard revela tambêm o teor elevado de veneno puro, existente nas glândulas e indicado pela diferença das duas pesadas.

A aranha, por éles chamada de Ctenus ferus, conteria nada menos de 2,16 mg. de veneno puro por glândula ou seja 4,32 mg por aranha; a Ctenus nigricenter, isto é, a Phoneutria nigricenter de hoje, revelou possuir 1,25 mg. ou sejam 2,50 mg. por aranha.

Na execução de nosso propósito de obtermos realmente peçonha pura, sêca, ponderalmente determinável, imaginámos diversos métodos de extração, sem que o operador fôsse acidentado e sem que a aranha sofresse dano.

Inicialmente tentamos estudar um processo de segurar a aranha com a mão e de extrair o veneno, fazendo-a picar num papel filtro.

Mas era necessário apreender-se a aranha com pinça grande, num golpe rápido, certeiro, pois invariàvelmente ela adotava a tipica atitude de ataque. Ora se comprimia em demasia a aranha, esmagando-a parcialmente entre as hastes da pinça, ora se conseguia agarrá-la apenas por uma perna, etc...

Sua ferocidade revelava-se tamanha que, mesmo quando presa na pinça.ou justamente por causa dêste vexame, ela procurava desvencilhar-se e agredir, preferindo ser despedaçada a permanecer calma.

Era impossível proceder-se à extração manual ou elétrica da peçonha, porque falháramos na técnica da apreensão.

Uma outra tentativa va tem sido a de fazê-la picar em papel de filtro, pois a maioria das aranhas, por mais que se movimentasse o papel em sua frente, permanecia olhando a mão do operador e aprontando o bote em direção à mesma, pouco se impressionando com a tira de papel.

Uma terceira tentativa consistiu no emprêgo de um laço de barbante, passando através de uma pipeta com lume largo e anteriormente aberto de maneira a não machucar a aranha. Introduzia-se a pipeta, com o laço na ponta, dentro do viveiro e procurava-se passar o laço em tôrno da aranha. Quando presa, puxava-se pelo barbante e a aranha ficava realmente presa e podia ser retirada. Mas havia dois inconvenientes: O maior era o de que quase sempre se machucava irremediávelmente a aranha, pois esta, desprezando a morte, tentava desvencilhar-se com tanta energia, que era necessário apertar-se o laço de tal maneira, que às vezes até se cortava a aranha em dois pedaços; e, outras vezes, ela perdia pernas, etc.. O outro inconveniente era o da deposição da peçonha no papel de filtro, a ser extraido depois com água distilada, que precisava ser evaporada, etc., perdendo-se o contrôle sôbre as quantidades individuais do veneno.

Descobriu então o nosso valioso ajudante, Sr. José Navas, técnico do Instituto e ajudante já dos próprios Vital Brazil e Jean Vellard, que se poderia empregar um simples aparelho que consistia em duas pipetas, unidas em suas pontas por um tubo de borracha bem fina e flexível. Sem vexar a aranha, após certa provocação, ela costuma morder no tubo de borracha, perfurando-o e depositando em seu interior o veneno líquido, puro. Quando não perfura o tubo, aspira-se cômodamente o veneno espalhado na superficie do mesmo com um capilar, assoprado depois sôbre um vidro de relógio.

As experiências com êste "aparelho" deram, de fato, bom resultado. Podia-se fâcilmente irritar as aranhas e elas mordiam o tubo. Aspirava-se cada vez o veneno "extravassado" e, terminada a "extração" de tódas. desligava-se uma pipeta e assoprava-se o conteúdo de veneno líquido sôbre o vidro de relógio. Finalmente desligava-se também a outra pipeta, procedendo-se a expressão total e completa do tubo de borracha com dois dedos.

Antes de cada extração de peçonha, lavam-se cuidadosamente as pipetas e a borracha, secando-as na estufa.

Feita a operação, seca-se o veneno sóbre o vidro de relógio, em vácuo. Após a secagem, raspa-se a peçonha que se apresenta como um pó esbranquiçado, fófo, e pesa-se extamente o pó de peçonha, em vidro exatamente tarado.

Guarda-se o veneno sêco em dessecador escuro, sobre cloreto de cálcio. Este recipiente só deve ser aberto, quando se juntar nova quantidade de veneno sêco.

Protocolo da obtenção de veneno puro, sêco:

Data da Quantidade	Ven. séco	Ven. sēco	Total de veneno
extração de aranhas	em mg	p/ aranha	sèco em mg
11-6-53	11,7 mg	1,45 mg	11,7 mg
	4,2	0,50	15,9
	6,3	0,35	22,2
	11,1	0,15	33,3
	7,4	0,08	40,7
	7,8	0,08	48,5
	3,9	0,035	52,4
	0,9	0,18	53,3
	1,3	0,065	54,6
	10,6	0,095	65,2
	14,7	1,84	79,9

79,9 miligramas de veneno puro, sêco, foram obtidos de 118 Phoneutria nigrirecuter, em 11 extrações, num período de 3 meses e poucos dias.

A média total de veneno seco por aranha está em tôrno de 0,438 mg. isto e, de uma aranha submetida a 10 extrações em 100 dias ou seja a uma extração cada 10.º dia.

A quantidade minima colhida no lote foi de 0,03 mg. e a quantidade màxima de 1,84 mg.

Nas reextrações sucessivas, com intervalo de 10 dias, mais ou menos, decresce o veneno quantitativamente por aranha.

De maneira alguma nos sentimos capacitados a referir desde já valores absolutos sóbre o rendimento da peçonha sêca. Para isto o período de obser-

vação é ainda curto demais (apenas 100 dias) e o número de extrações pouco elevado (apenas 11), devendo-se levar em conta ainda, que coincidia justamente com o inverno, com dias particularmente trios; até poucos graus centigrados acima de O. As aranhas não se alimentavam; permaneciam recolhidas num canto; não se mostravam muito dispostas a picar, etc..

Entretanto, mesmo assim parece elucidativo comparar os indices minimos, médios e máximos das "Primo-extrações" e das "Re-extrações" pois permitem, de alguma maneira, concluir sóbre os possíveis valores da peçonha de uma Phoneutria nigriventer na natureza e de quanto esta poderia inocular em picadas no inverno:

rimo - extrações :- (Vene	eno seco, puro, em mi	ligramas, por individuo
minimo 0,18	mėdio 1,16	máximo 1,84
Re - extrações : - 0.035	0,17	0,50

Estes dados referem-se exclusivamente ao veneno séco, obtido por picada em tubo de borracha, isto é, ao veneno que a aranha larga voluntàriamente numa única picada. Não se exclúi, portanto, que a mesma aranha possua ainda dentro de suas glándulas outro tanto de veneno quanto o ejetado.

Nos dois lotes de 8 aranhas de 11/6 e de 28/9 que forneceram respectivamente 1,45 e 1,84 mg por indivíduo, observámos mesmo que apenas a metade fornecera uma dose grande, enquanto as outras quase nada deram de visivel. Isto vem confirmar que, na picada, a aranha não larga todo o veneno, e que o valor máximo, dado como 1,84 mg por indivíduo, pode ser duplicado em alguns espécimes grandes.

Estamos convictos mesmo de que se encontram na natureza exemplares adultos de *Phoneutria nigriventer*, que poderão injetar, em picadas repetidas, perto de 4 mg. de veneno sêco, embora isto constitua caso esporádico.

Vital Brazil e Jean Vellard colheram pelo processo da expressão das glândulas com bastonete de vidro a respeitável quantidade de 4,32 mg. por *Phoneutria nigriventer*.

Podemos, nêste conjunto, acrescentar que um sóro anti-ctenídico, realmente eficiente contra as representantes do género *Phoneutria*, deveria neutralizar pelo menos 4 a 5 mg. de veneno sêco.

Titulação da LD 50 do veneno puro, sêco, de Phoneutria nigriventer

Preparativos: No estabelecimento da dose 50% letal do veneno puro, sêco, de Phoneutria nigriventer, seguimos o método descrito por Reed e Muench (3). Usamos camundongos de 20 g. de peso, com tolerância, no máximo de 2 gramas. As soluções de veneno foram injetadas tanto na veia caudal (via endovenosa) como sob a pele da barriga (via subcutânea). O "inoculum" sempre era na quantidade de 0,5 cm³ por dose e por animal. As diversas diluições do veneno foram feitas em soluto fisiológico com pH em torno de 6,5.

Tabela I

(veneno sêco, extraido alguns dias antes da titulação) — 11/6/53 via subcutânea:

	Dose	Ca	mundo	ngos	Acumi	ilação dos	re-ult.	~ .
Lote	mg	total	vivos	mortos	vivos	mortos	total	% de mortalidade
I	0.0068	5	5	0	11	0	11	0
11	0,01	5	3	2	6	2	S	25
111	0.015	5	2	3	3	5	S	62.5
IV.	0.021	- 5	1	4	1	9	10	90
1.	0,032	5	0	5	0	14	14	100
VI	0.046	5	0	5	0	19	19	100
V11	0.068	5	0	5	0	24	24	100
Fator de diluição	1,468	35	11	24	21	73	94	LD 50=0.0135 mg

LD 50 por grama de camundongo, via subcutânea = 0,00067 mg ±

Numa segunda titulação, feita em 21/9/53, com veneno puro, sêco, estocado em dessecador, em vácuo, sobre cloreto de cálcio, durante 3 meses, obtivemos o seguinte resultado, na repetição das mesmas diluições da tabela I:

LD 50 por grama de camundongo, via subcutânca = 0,0007 mg. ±

Estas duas titulações, realizadas com intervalo de 3 meses, com o mesmo veneno sêco, guardado, mas em diluições feitas à parte, revelam que é perfeitamente possível guardar o veneno sêco e que êste não perde sua atividade num periodo de 3 meses.

TABELA II

(Veneno sèco, extraido 4 dias antes da titulação) — 15/6/53 — via endovenosa

	Dose	Ca	nmundo	ngos	Acum	ulação dos	result.	~ 1
Lote	mg	total	vivos	mortos	vivos	mortos	total	% de mortalidade
ī	0,001	5	5	0	27	0	27	0
H	0.0015	5	5	0	22	0	22	0
III	0.0021	5	5	0	17	0	17	0
IV.	0,0031	5	5	0	12	0	12	P
1.	0.0046	5	4	1	7	1	8	12.5
VI	0,0068	5	3	2	3	3	6	50
VII	0.01	5	0	5	0	8	S	100
Fator de diluição	1,468	35	27	S	SS	11	100	I.D 50=0.0068

LD 50, endovenosa, por grama de camundongo = 0,00034 mg ±

Em 21/9/53 foi repetida esta experiência, empregando-se veneno puro, sêco, do mesmo estoque que o de 15/6. Conseguimos reproduzir exatamente os resultados da tabela II, com uma dose de 50% letal por via venosa e por grama de camundongo = 0,0003 mg. \pm

Em 13/10/53 repetimos a titulação da LD 50 em camundongos com veneno puro, sêco, retirado apenas 1 dia antes de aranhas vivas. Queríamos obter maior certeza sôbre a constância de ação do veneno sêco, quer recente, quer estocado por meses.

Nesta experiência foi o veneno dissolvido em uma solução aquosa de cloreto de sódio a 8,5 o/oo com PH em tórno de 8,5. Vital Brazil e Jean Vellard já tinham assinalado que, segundo suas experiências, era o veneno melhor dissolvido e mais ativo, quando em água de cal, isto é, quando em pH bastante alcalino, do que quando dissolvido em pH neutro ou levemente ácido. Chegaram estes pesquisadores a distinguir entre peçonhas ácidas e alcalinas, ambas provenientes da mesma aranha, concluindo que os venenos alcalinos eram bem mais ativos do que os ácidos.

Em nossas recentes experiências com veneno puro, sêco, dissolvido em sol. de Na Cl a 0,85% com pH de 8.5, tratámos de reajustar o pH. após solução da peçonha, para 6,5, atim de que pudessemos injetar as soluções também na veia dos camundongos. Tanto esta solução como as de 15/6/53 e de

21/9/53 se apresentavam absolutamente limpidas, transparentes, sem opalescência alguma.

LD 50 venosa por grama de cammdongo = 0,00037 mg ±

LD 50 subcutânca por grama de camundongo = 0,00069 mg \pm

Estes novos dados vêm confirmar a não interferência do pH (6,5 on 8,5) do soluto de veneno. Sempre a peçonha se dissolve bem, desde que se tome bastante líquido, pelos menos 6 cm³ de soluto fisiológico para I miligrama de peçonha. Não é necessário proceder-se à filtração, pois líquido é completamente límpido.

Por outro lado fica demonstrado também de que não há diferença de ação entre veneno puro, séco, recente e veneno puro, sêco guardado durante 1-3 meses em vácuo, sôbre cloreto de cálcio, em ambiente escuro.

DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

A surpreendente concordância das doses 50% mortais, estabelecidas em 6 titulações (3 por via venosa e 3 por via subcutânea), sempre com o mesmo fator de diluição e com 7 diluições diferentes, com o emprêgo de 5 camundongos para cada uma das diluições, nenhuma margem deixa para dúvidas de que o processo de OBTENÇÃO DE VENENO PURO, SÊCO, GUARDADO EM VACUO SOBRE CLORETO DE CÁLCIO, EM AMBIENTE ESCURO E A TEMPERATURA AMBIENTE, seja realmente bom e aproveitável.

Acresce ainda que estas titulações foram teitas tauto com peçonha recentissima (extraida 1 ou 2 dias autes da experiência) como com peçonha guardada já durante 1-3 meses.

Também ficou elucidado que a peçonha sêca, depois de ser pesada exatamente, se dissolve perfeita e *completamente* em soluto fisiológico com PH neutro, levemente ácido ou bem alcalino.

A variação do pH não interfere na solubilidade. Importante é, entretanto, que a peçonha seja dissolvida em um volume bastante grande de solvente, na proporção mais ou menos de 6 cm³ por miligrama de veneno.

A LD 50 por via subcutânea é exatamente o dôbro da peçonha que mata ainda 50% por via venosa.

O tempo de morte dos animais revelou-se também altamente concorde nos 6 ensaios. Os animais injetados na veia com doses 100% mortais sucumbem já dentro de 10 minutos a meia hora; com doses mais ou menos 75% letais, a morte sobrevém dentro de 1 a 2 horas; e, com a quantidade de peçonha 50% mortal, entre 2 e 4 horas.

A inoculação subcutânea (sob a pele da barriga) acompanha de perto êste tempo de morte, ainda que seja sempre mais retardada: — com dose 100% mortal entre 2 a 4 horas; 75% letal entre 4 a 7 horas; 50% mortal entre 6 a 10 horas.

A intoxicação inicia-se com uma fase francamente excitatória. Os animais executam pulos e movimentos abruptos; quando quietos, reagem ao mais leve toque com um grito e um pulo desordenado.

Desde o comêço manifesta-se $d\hat{o}r$. Pequenos gritos são emitidos quase que continuamente.

Sobrevêm então os sintomas de intoxicação pelo lado do sistema nervoso, com respiração curta, rápida, ofegante; suor na nuca e nas costas; tremores convulsivos e intermitentes; ataques convulsivos do tipo tônico; salivação exagerada; a paralisia se torna completa, crises de sufocação dominam o quadro; a cegueira se estabelece quase sempre.

A morte é precedida por uma crise convulsiva mesmo paralisado, rola o animal do lado, procura executar pulos e cai em absoluta prostração, seguida de morte.

A rigidêz tetânica é completa 5 minutos mais tarde.

A peçonha de *Phoncutria nigriventer* é muito mais ativa, pêso por pêso, do que a das serpentes do gênero *Bothrops*, equiparando-se às peçonhas mais ativas de *Crotalus terrificus terrificus* e de *Naja*.

Em face desta afirmativa, perfeitamente comprovada, é naturalmente de sumo interesse estabelecer-se QUANTO VENENO PODE TER UM EXEMPLAR ADULTO deste tenivel aracnideo.

O nosso processo de extração por meio de picada em tubo de borracha, não nos tem fornecido, até agora, uma resposta satisfatória.

De 8 aranhas conseguimos I,84 mg como média individual. Quatro delas forneceram muito pouco, não visivel a ôlho nú, de maneira que estamos inclinados a admitir a possibilidade de que esta colheita de fato representava apenas o veneno de 5 aranhas, o que daria 3,5 mg. de peçonha séca por indivíduo.

Deve-se ter em mente que esta quantidade de veneno representa apenas o ejetado numa única picada, em tubo de borracha. Não se pode concluir que a aranha tivesse realmente esgotado sua reserva venenifera.

Realmente, 3 dias após a colheita, as mesmas aranhas já deram nova quantidade de peçonha. Vítal Brazil e Jean Vellard, em suas pesquisas com veneno puro, estabeleceram 4.32 mg de veneno séco por aranha.

Na medicina humana revestem-se dados de grande importância. A quantidade de 3,5 mg de veneno, obtida em picada voluntária num tubo de borracha, poderia eliminar 500 camundongos de 20 gramas cada, quando atingidos na veia e 250 quando picados sob pele e ainda sobrariam reservas mortíferas à aranha.

Seria o homem mais sensível ao veneno de *Phoneutria nigriventer* do que o camundongo? O fato de ter havido casos de morte humana por picada desta aranha parece justificar a pergunta.

Permanecendo, entretanto, adstritos aos fatos e admitindo-se uma sensibilidade igual a esta peçonha entre o homem e camundongo, chegar-se-ia à conclusão de que nos acidentes humanos, determinados por Ph. nigriventer, seria o perigo tanto maior quanto menos pêso tiver a vitima.

As crianças, até 3 anos de idade, quase sempre deveriam receber o soro anti-ctenidico.

Os adultos poderiam ser dispensados da sóroterapia, quando não se manifestasse sintomas gerais (além da dôr quase sempre presente), como variação do pulso, dificuldades respiratórias, perturbações da visão, etc..

Não nos sentimos competentes a dizer do valor de uma soroterapia tardia, mas parece-nos, de conformidade com o que observámos quanto ao tempo de morte dos camundongos, que a injeção do soro anti-ctenídico horas após o acidente não mais teria valor e poderia ser dispensada.

Em casos graves, deveria o sôro ser injetado, o mais tardar, dentro de 4-5 horas após o acidente ou bem mais cedo ainda.

CONCLUSÃO

A aranha *Phoneutria nigrivente* da familia *CTENIDAE*, é realmente perigosa ao homem, principalmente às crianças nos primeiros anos de vida.

Pode-se com relativa facilidade manter esta aranha em condições de cativeiro no laboratório e extrair-lhe periòdicamente a peçonha.

Esta conserva-se muito bem, em estado seco, em vácuo, sobre cloreto de cálcio, em ambiente escuro e à temperatura ambiente, sem perder sua atividade.

O método de manutenção destas aranhas em laboratório e a estocagem de veneno puro, sêco, além de possibilitar trabalhos experimentais de exatidão, permitiria também a produção de sôros anti-ctenídicos de melhor qualidade e rigorosamente tituláveis e poria a fonte produtora de sôro a salvo da penúria em matéria prima.

SUMÁRIO

Descreve-se a possibilidade de manter-se as aranhas da espécie *Phoneutria* nigriventer em recipientes de laboratório.

Com um simples "aparelho de extração" é possível obter-se periòdicamente o veneno puro, sem que sejam prejudicadas as aranhas.

Quando sêca, apresenta-se a peçonha como um pó esbranquiçado, com tonalidade para cinza; de muito pouco pêso, fofo e higroscópico.

Esta peçonha pode ser estocada à temperatura ambiente, em dessecador a vácuo, sobre cloreto de cálcio, ao abrigo da luz, sem que perca sua atividade após 3 ou 4 meses.

Seguindo a técnica de Reed e Muerch, foram realizadas 6 titulações em camundongos, da quantidade 50% letal, 3 por via venosa e 3 por via subcutânea com amostras de peçonha sêca, recente, estocada há pouco, e guardado há mais de 3 meses.

A absoluta concordância das 3 experiências constitui a garantia da aproveitabilidade do processo de obtenção e estocagem da peçonha.

As doses 50% letais giram, por via venosa, em tôrno de 0,00034 mg por grama de camundongo e, por via subcutânea, em tôrno de 0,0007 mg. por grama.

Foi estabelecido que uma aranha pode ter como máximo 3,5 mg de peçonha, quantidade suficiente para matar 250 camundongos de 200 gramas, em picada direta, de maneira que se justifica a conclusão de que, em acidentes humanos, poderiam verificar-se casos de morte aos primeiros anos de vida.

Os adultos não parecem correr perigo de vida, embora também possam verificar-se casos graves, manifestados clinicamente por variação do pulso, arritmias, alterações do ritmo respiratório e perturbações visuais, casos êstes que exigem a soroterapia.

A injeção do sóro deverá ser feita tão cedo quanto o possível, mas parece carecer de valor neutralizante quando decorridas já 24 horas desde o acidente.

A srta. Nicolina Pucca e ao sr. José Navas os nossos agradecimentos pelos trabalhos valiosos e pela colaboração dedicada, tanto na manutenção, extração, como na titulação da peçonha.

SUMMARY

Specimens of the poisonous spider *Phoneutria nigriventer*, which are found along the coast of southern Brazil and around São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais and Rio Grande do Sul, etc., have been kept alive at the Laboratory.

A simple "apparatus" is described for extracting their venom every 1 or 2 weeks.

The dried venom is of white color, very hygroscopic and may be stored perfectly in a vacuum exsiccator, over calcium-chloride, at room temperature and in the dark, without apparent change of activity, even after 3 or 4 months.

According to the technic described by REED e MUENCH, 6 experiments were undertaken to establish the LD²⁰ in white mice, 3 experiments with intra-

venous and 3 with subeuraneous injections not only with recently dried venom, but also with venom of more than 1 to 3 months storage.

The results were in good agreement, demonstrating that the methods of obtaining the pure venom and of storing it are satisfactory.

The LD_{50} per gram mouse is 0,00034 milligram intravenously and 0,0007 mg subcutaneously.

Phoneutria nigriventer may have 3,5 mg of venom in both glands. This quantity is sufficient to kill 250 mice of 20 gram weight.

The conclusion is justified that accidents in human beings, under 3 years of age, are quite serious, and specific serum should de given as soon as possible.

In adults the accidents are commonly not so dangerous, but general symptoms of intoxication-like disturbances of cardiae function, respiratory difficulties, blindness, etc. — always call for injection of specific serum.

Serum-therapy must be installed as soon as possible within the first 12 hours after the accident.

ZUSAMMENFASSUNG

Die giftigste Spinne Brasiliens, *Phonentria nigriventer* (die nach unserem Dafürhalten mit *Phonentria fera* identisch ist), die überall im Staate São Paulo, Rio de Janeiro, Santa Catarina und Rio Grande do Sul und an der südlichen brasilianischen Atlantikküste vorkommt und von da, hauptsächlich mit der Bananenverschiffung, auch nach anderen Ländern gelangt (wie Uruguay, Argentinien, ja selbst in die Hafenstädte Deutschlands), wird num im Institute Butantas, nach einer in dieser Arbeit beschriebenen Methode, in kleinen Kätigen lebendig gehalten.

Auf ganz engem Raume befinden sieh in Butantan, in den Laboratorien des Verfassers über 200 erwachsene Exemplare und mehrere Hundert Jungtiere.

Es ist nun auch erstmalig gelungen, diessen äusserst aggressiven Spinnen fortlaufend das Gift abzunehmen; alle Woche oder jede 2. Woche.

Dieses Gift wird getrocknet. Es zeigt eine weisslich-graue Färbung, ist sehr hygroskopisch und bildet einen lockeren, sehr leichten Staub.

Das so periodisch gewonnene Trockengiit kan sehr gut im Vakuum, über Kalziumchlorid, bei Zimmertemperatur und Liehtabgesehlossenheit monotelang aufbewahrt werden, ohne irgendwie an Aktivität einzubüssen.

Nach der von Reed und Muench beschriebenen Methode wurden mit dem Trockengiste 6 Bestimmungen der 50% — igen tödlichen Dosis an 20 Gramm schweren Mäusen vorgenommen — 3 intravenös und 3 durch subkutane Einspritzung. Eine Bestimmung wurde mit irischen, eben gewonnenem Trockengiste, die zweite mit einem schon älteren und die dritte mit einem an die 100 Tage alten Trockengiste vorgenommen.

Die absolute Konkordanz der Resultate aller Dosierungen kann als volle Garantie angesehen werden, dass die beschriebene Methode der Giftgewinnung wie auch die Aufbewahrung des Trockengiftes als gut zu bezeichnen sind. Da die drei Versuche immer mit in physiologischer Kochsalzlösung gelöstem Gifte gemacht wurden, aber jedesmal bei einem anderen p H Wert (um 5-um 6, 7 und um 8,5 herum), konnte auch klar gelegt werden, das kleine pH Schwankungen die Löslichkeit nicht beeinträchtigen. Die Hauptsache ist, dass immer eine genügend grosse Lösungsmenge vorhanden ist, ungefähr 6 cm³ auf 1 Milligramm Trockengift.

0,00034 Milligramm ist die 50% ige tödliche Dosis pro Gramm Maus, bei intravenöser und 0,0007 mg die bei subkutaner Injektion.

Würde man das auf erwachsene Mäuse umrechnen, so könnte eine einzige Phoneutria nigriventer durch ihre Bisse nicht weniger als 250 Stück Mäuse, mit je 20 Gramm Gewicht, töten.

In die Ader getroffen, würden sogar 500 Mäuse sterben.

Diese Tatsache muss auch in der menschlichen Medizin gewertet werden, zumal da Unfälle mit dieser Spinne in gewissen Gegenden Brasiliens, besonders um São Paulo herum, gar nicht selten sind. Ohne von einer viel grösseren Sensibilität des menschlichen Körpers gegen dieses Gift sprechen zu wollen, ergibt sich aus den Dosierungen an den Mäusen, dass besonders Kinder in den ersten 3 Lebensjahren durch den Biss einer dieser Spinnen lebensgefährlich verletzt werden kännt en und dass es dabei unbedingt nötig ist, so schnell als möglich, das von Butantan hergestellte "sõro anti-ctenidico" zu verabreichen.

Bei erwachsenen Menschen tritt die Todesgefahr viel mehr in den Hintergrund, kann aber keinesfalls als ein Ding der Unmöglichkeit bezeichnet werden. Auch bei Erwachsenen erscheint es uns notwendig, jedesmal dann das spezifische Serum zu spritzen, wenn der Patient Pulsalterationen, Herzrythmusveränderungen und Blindheitsanzeichen aufweist.

24 Stunden nach dem Bisse lohnt es sich kaum mehr, Serum zu verwenden, da das Gift entweder schon an den Nervenzellen fixiert ist und durch das Serum nicht mehr neutralisiert werden kann oder weil schon die natürliche Ausscheidung des abgebauten Giftes vor sich geht.

BIBLIOGRAFIA

- Brazil, V. e Vellard, J. Contribuição ao estudo do veneno das aranhas Mem. Inst. Butantan, II (fasc. unico); 1925.
- 2. Brazil, V. e Vellard, J. Contribuição ao estudo do veneno das aranhas, 2.ª memoria Mem. Inst. Butantan, III 243-301; 1926.
- 3. Reed e Muench Am. J. Hyg. 27, 493; 1938.





Fote I - Instalação para a manutenção de Phoncutria minitenter em laboratorio

 $_{
m cm}$ $_{
m 1}$ $_{
m 2}$ $_{
m 3}$ $_{
m 4}$ $_{
m 5}$ $_{
m 6}$ ${
m SciELO}_{
m .0}$ $_{
m 11}$ $_{
m 12}$ $_{
m 13}$ $_{
m 14}$ $_{
m 15}$ $_{
m 16}$

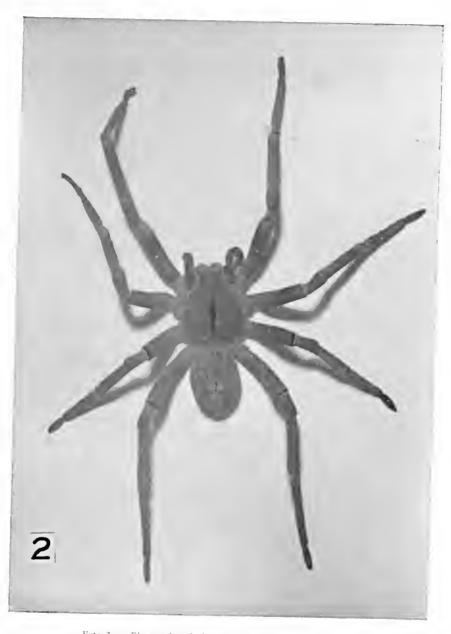


Foto 2 — Phoneutria nigriventer (Vista dotsal (tam. nat.)

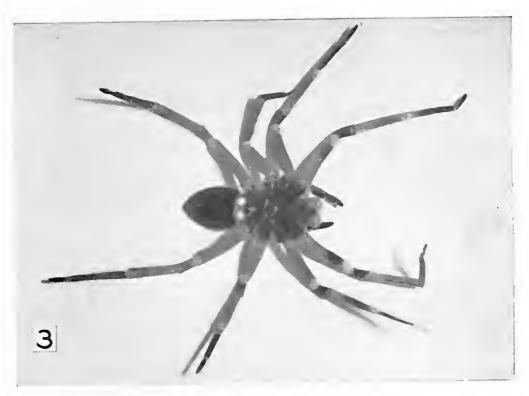


Foto 3 Phoneutria nigriventer (Vista ventral (tam. nat.)

 $_{
m cm}$ $_{
m 1}$ $_{
m 2}$ $_{
m 3}$ $_{
m 4}$ $_{
m 5}$ $_{
m 6}$ ${
m SciELO}_{
m .0}$ $_{
m 11}$ $_{
m 12}$ $_{
m 13}$ $_{
m 14}$ $_{
m 15}$ $_{
m 16}$

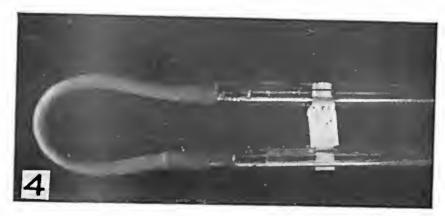


Foto 4 — "Dispos.tivo" para extração periódica da peçonha.



Foto 5 — O Aracnideo picando no tubo de borracha.

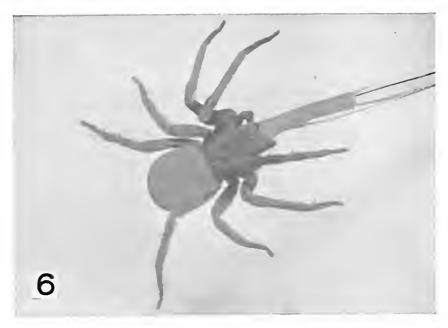


Foto 6 — Outra pôse de deposição da peçonha por perfuração do tubo de borracha,



Foro 7 - Diposição da peçenha sobre um vidro de relógio.



Foto 8 — O tubo de l'orracha esticado permite recuperar toda a pogonha depositada em seu interior.



Feto 9 - Aspec o da seconha seca de Phonent is nigricenter.

AUSTRALORBIS IMMUNIS (LUTZ, 1918) HOSPEDEIRO INTERME-DIÁRIO DE SCHISTOSOMA MANSONI NA CIDADE DE SANTOS, ESTADO DE SÃO PAULO

JOSÉ M. RUIZ & JOSÉ M. A. CARVALHO

(Secção de Parasitologia, Instituto Butantan, S. Paulo, Brasil)

Lutz deu a esta espécie o nome de *Planorbis confusus* em sua publicação original. Em 1928, substitúi a denominação especifica *confusus*, preoeupada, pela de *immunis*. Essa denominação deriva da eonvicção do autor
de que essa espécie não se presta á evolução do *S. mansoni*. Em 1938 Vianna
Martins, baseado no estudo do aparelho genital e da concha de exemplares de
Belo Horizonte, identificou esta espécie ao *Australorbis glabratus*, tendo ainda
verificado que se apresentava altamente infestada (25%), na Vila Afônso Pena.

Em numerosos lotes de planorbideos de diversos pontos de Belo Horizonte, inclusive da Vila Afônso Pena, eapturados pessoalmente ou recebidos de nosso capturador naquela Capital, nunca encontramos a espécie Anstralorbis immunis mas exclusivamente Australorbis glabratus. Nossa identificação se baseia na morfologia da eoncha, do sistema genital completo e na morfologia do sistema renal.

Estudando os planorbideos de Santos, Estado de São Paulo, temos eapturado material abundante de diversos pontos da referida eidade, em particular dos bairros de Saboó, Jabaquára, Rio da Avó, dos eanais n.º 5 e n.º 6. Em todos esses locais encontramos planorbideos infestados por formas larvárias de Schistosoma mansoni.

Coutinho (1949, 1950), identificou em Santos o Anstralorbis glabratus, baseado em estudo eonchológico e de parte do aparelho genital, apresentando bôas figuras. Assinalou ainda Anstralorbis sp. da qual den figuras da eoncha.

Bequaert e Lucena (1950), põem em dúvida a existência em Santos de representantes do gênero Anstralorbis, mas Coutinho volta ao assunto em defesa de seu ponto de vista anterior e aparentemente demonstra a identidade entre o vetor da esquistossomose de Santos, de Caracas, Venezuela, Belo Horizonte, Bahia e Pernambuco, isto é, o Australorbis glabratus.

Entregue para publicação em 28 de Outubro de 1953.

Estudamos o material de Santos conchológica e anatômicamente pondo em evidência os pormenores do aparelho digestivo, sistema genital e sistema renal. Verificánios que ocorrem duas espécies do gênero Australorbis. A mais abundante e que freqüentemente constitúi a única representante dos lotes, foi identificada a Australorbis immunis (Lutz, 1918). Esta espécie é precisamente a que apresenta infestação pelo Schistosoma mansoni.

A segunda espécie, menos frequente, corresponde ao *Planorbis nigricans* Spix, segundo Lutz, ou *Australorbis bahiensis* Dunker, segundo Baker, 1945. Esta espécie é aliás muito abundante em São Paulo, Capital, onde não foi encontrada infestada. A concha desta espécie se distingue fàcilmente da primeira pela maior altura das espiras, pela umbilicação pronunciada da face direita, que naquela é plana como em *A. glabratus olivaceus*, e pela face esquerda fortemente angulosa, ao contrário da primeira que apresenta ângulos arredondados e próximos da sutura conforme a descreveu e figurou Lutz.

Pela concha não é facil distinguir. A. immunis de A. glabratus olivaceus, embora os maiores exemplares raramente atinjam um diâmetro de 25 mm. Tambem não se consegue a separação pelo exame exclusivo da genitália que é muito próxima á de A. glabratus.

Pela morfologia do rim a distinção é nítida e fácil. A. glabratus ou a sua variedade olivaceus apresentam uma crista renal muito nítida, que não existe, nem vestigialmente, em A. immunis.

Pormenores anatômicos serão dados em publicação futura.

TABLE 2 (*)

Dogs injected intravenously with several sulfones. Hemolysis represented by percentage of plasma hemoglobin in relation to total hemoglobin of blood.

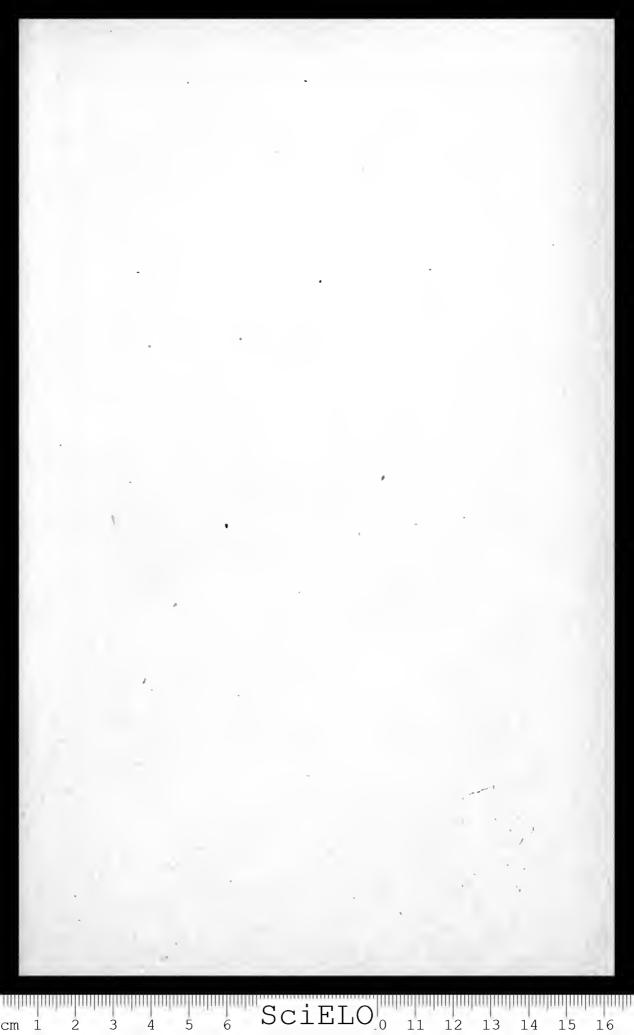
HEMOLYSIS %

					E	NE IN	MIN	FFES	TIME IN MINUTES AFTER THE INJECTIONS	THE	NIE	CTION	S
DOG	DRUG INJECTED	m] k	DDS mg/K	BEFORE	30	09	96	130	150	081	210	310	300
1.52.5	DIAZONE 1 805 g %	Çì	20	0.0	0.48	0.48	0.48	1.97	1	1	1		1.52
8-52-8	AMGL.		130	0.0	1.18	1.18 1.18	1.13	1.13	1.45	1		1	1
9-53-8	AMGL 30 %	-	981	0.0	0.81				1	1 3	:	t :	[
S-25-01	AMGL 30 %	0.5	5	0.0	1.1	9.	9.1	-	eo ci	Si Si	٠, د.	: 0	
12-52-S	PROMANID 40 %	-	125	0 0	0.0	0.1	0.		o ci		φ.		
13-25-8	SULFENONA 40 %	_	125	0.0	0.21	0.8	8.0		1.28	28.	ê .	1.40	

(*) Errata das Memorias do Instituto Butantan, 24 (2): 69-76, 1952: Em lugar da página 73 (Rosenfeld, G., Rzeppa, II., Nahas, L. & Schenberg, S. — Hemolysis and blood concentration of sulfones "in vivo"), inscrir esta página corrigida.

 $_{ exttt{cm}}$ $_{1}$ $_{2}$ $_{3}$ $_{4}$ $_{5}$ $_{6}$ $SciELO_{.0}$ $_{11}$ $_{12}$ $_{13}$ $_{14}$ $_{15}$ $_{16}$







* Impresso na
EMPRESA GRAFICA DA
"REVISTA DOS TRIBUNAIS" LTDA.
* São Paulo *

 $_{
m cm}$ $_{
m 1}$ $_{
m 2}$ $_{
m 3}$ $_{
m 4}$ $_{
m 5}$ $_{
m 6}$ $_{
m 7}$ $_{
m SciELO_{l1}}$ $_{
m 12}$ $_{
m 13}$ $_{
m 14}$ $_{
m 15}$ $_{
m 16}$ $_{
m 17}$ $_{
m 18}$